

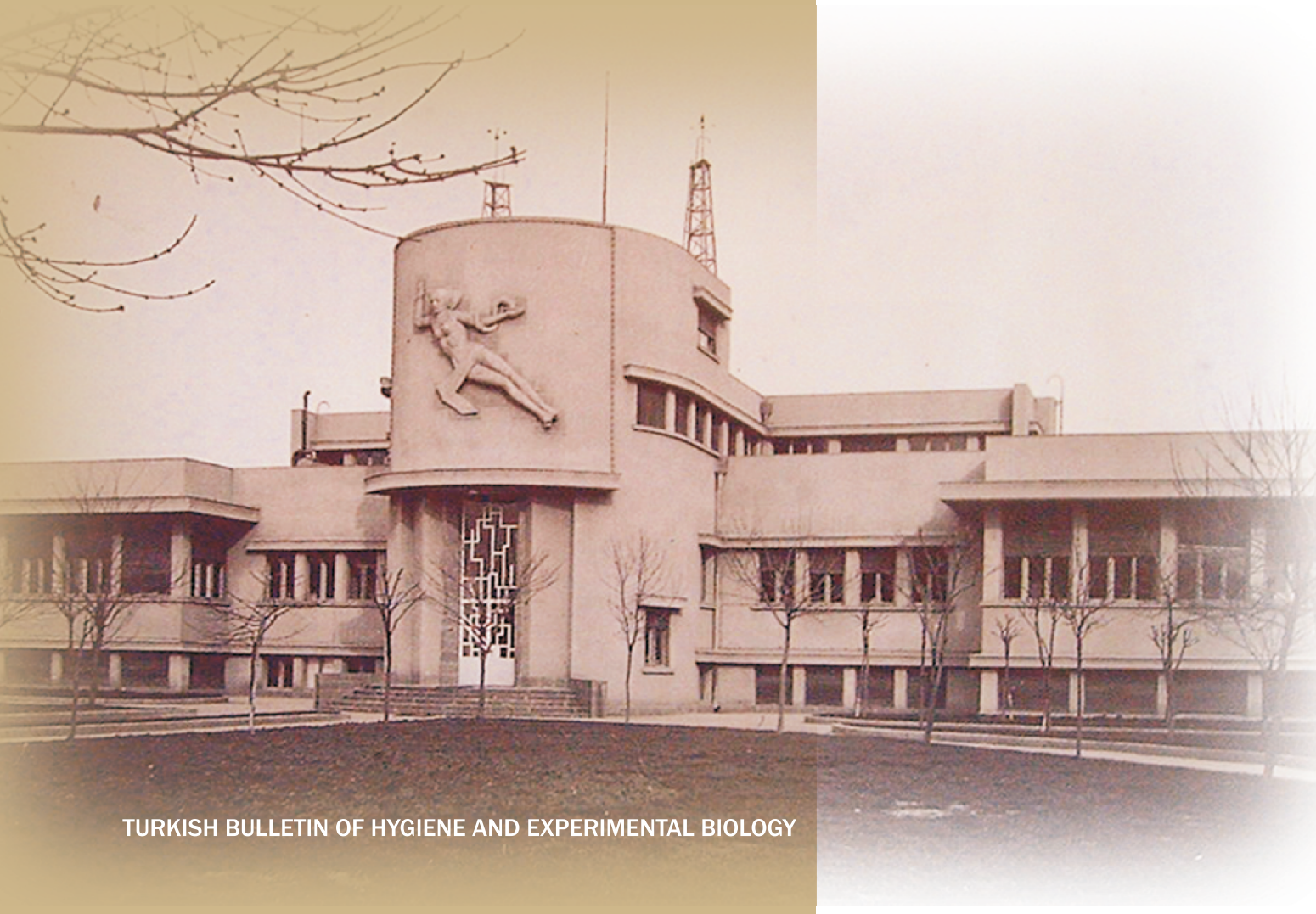


T.C. Sağlık Bakanlığı
Türkiye Halk Sağlığı
Kurumu

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 74 ■ Sayı/Number 1 ■ Yıl/Year 2017





T.C. Sağlık Bakanlığı
Türkiye Halk Sağlığı
Kurumu

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

REPUBLIC OF TURKEY
THE MINISTRY OF HEALTH
PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

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

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 74 ■ Sayı/Number 1 ■ Yıl/Year 2017

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND
EXPERIMENTAL BIOLOGY

Turk Hij Den Biyol Derg



TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Sahibi / Owner

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu adına

On behalf of Public Health Institution of Turkey

İrfan ŞENCAN, Başkan (President)

EDİTÖR / EDITOR IN CHIEF

Hasan IRMAK

EDİTÖR YARDIMCILARI / DEPUTY EDITORS

Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN

Demet CANSARAN-DUMAN

Hülya ŞİMŞEK

Pınar KAYNAR

YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Mehmet Kürşat DERİCİ

Fatih BAKIR

Mestan EMEK

Fehminaz TEMEL

Selin NAR-ÖTGÜN

Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK

Şule ŞENSES-ERGÜL

Arsun ESMER

Sibel KARACA

Gülsen TOPAKTAŞ

TEKNİK KURUL / TECHNICAL BOARD

Utku ERCÖMART

Zeynep KÖSEOĞLU

Selahattin TAŞOĞLU

TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY
ANKARA-TÜRKİYE

Yılda dört kez yayımlanır / Published four times per year

Asitsiz kağıt kullanılmıştır / Acid free paper is used

Tasarım - Dizgi / Design - Editing :

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu / Public Health Institution of Turkey

Destek Hizmetleri / Supportive Services

Satınalma ve İdari İşler Daire Başkanlığı /

Purchasing and Administrative Affairs Department

Baskı ve Cilt / Press and Binding :

Azim Matbaacılık

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

Tel: +90 312 342 03 71-72

e-posta: info@azimmatbaacilik.com

Yayın Türü / Type of Publication :

Yerel Süreli Yayın / Periodical Publication

Basım Tarihi / Date of Publication :

2017

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

ULUSLARARASI BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / INTERNATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

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

ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

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

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Haluk VAHABOĞLU, İstanbul

Hasan IRMAK, Ankara

Hasan TEZER, Ankara

Hayrettin AKDENİZ, Bolu

Hilal ÖZDAĞ, Ankara

Hülya ŞİMŞEK, Ankara

Hürrem BODUR, Ankara

Işıl MARAL, İstanbul

İ. Mehmet Ali ÖKTEM, İzmir

İpek MUMCUOĞLU, Ankara

İrfan EROL, Ankara

İrfan ŞENCAN, Ankara

İsmail CEYHAN, Ankara

Kemal Osman MEMİKOĞLU, Ankara

Koray ERGÜNAY, Ankara

Levent AKIN, Ankara

Mahinur AKKAYA, Ankara

Mehmet Ali ONUR, Ankara

Mehmet Kürşat DERİCİ, Çorum

Mestan EMEK, Antalya

Metin KORKMAZ, İzmir

Mithat ŞAHİN, Kars

Muhsin AKBABA, Adana

Murat DİZBAY, Ankara

Mustafa AKSOY, Ankara

Mustafa ERTEK, Ankara

Mustafa Kasım KARAHOCAGİL, Kırşehir

Mustafa Kemal BAŞARALI, Ankara

Mustafa KAVUTÇU, Ankara

Mükerrem KAYA, Erzurum

Nazime MERCAN, Denizli

Nazmi ÖZER, Ankara

Nilay ÇÖPLÜ, Ankara

Nur AKSAKAL, Ankara

Nur Münevver PINAR, Ankara

Nuran ESEN, İzmir

Oğuz GÜRSOY, Denizli

Orhan BAYLAN, İstanbul

Orhan YILMAZ, Ankara

Özlem KURT AZAP, Ankara

Pınar KAYNAR, Ankara

Pınar OKYAY, Aydın

Rahmet GÜNER, Ankara

Recep AKDUR, Ankara

Recep KEŞLİ, Afyonkarahisar

Recep ÖZTÜRK, İstanbul

Rıza DURMAZ, Ankara

S. Aykut AYTAÇ, Ankara

Saime ŞAHİNÖZ, Gümüşhane

Sami AYDOĞAN, Kayseri

Sarp ÜNER, Ankara

Seçil ÖZKAN, Ankara

Seda KARASU YALÇIN, Bolu

Seda TEZCAN, Mersin

Selçuk KAYA, Trabzon

Selçuk KILIÇ, Ankara

Selim KILIÇ, Ankara

Selin NAR ÖTGÜN, Ankara

Sema BURGAZ, Ankara

Semra Ayşe GÜREŞER, Çorum

Sercan ULUSOY, İzmir

Sultan ESER, İzmir

Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Manisa

Sümer ARAS, Ankara

Şule SENSES ERGÜL, Ankara

Tevfik PINAR, Kırıkkale

Turan BUZGAN, Ankara

Yeşim ÖZBAŞ, Ankara

Yunus Emre BEYHAN, Van

Zafer ECEVİT, Ankara

Zafer KARAER, Ankara

Zati VATANSEVER, Kars

Zeynep GÜLAY, İzmir

TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ YAZIM KURALLARI

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

11. Araştırma yazıları;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Kitap: Yazar(lar)ın soyadı adının baş harf(ler)i. Kitabın adı. Kaçınca 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. Kaçınca 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 dipnota yer verilmeli, uygun simgeler (*, +, ++, v.b.) kullanılmalıdır. Fotoğraflar “jpeg” formatında ve en az 300 dpi olmalıdır. Baskı kalitesinin artırılması için gerekli olduğu durumlarda fotoğrafların orijinal halleri talep edilebilir.

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

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

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

15. Editöre Mektup: Daha önce yayımlanmış yazılara eleştiri getirmek, katkıda bulunmak ya da bilim haberi niteliği taşıyacak bilgilerin iletilmesini 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 55 91

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

WRITING RULES OF TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Articles should be prepared according to the rules of the Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology. Submissions can be made online at the address www.turkhiyjen.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, Unl  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 papevars: 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  . 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 55 91

e-mail : tthsk.thdbd@saglik.gov.tr

TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

YAYIN İLKELERİ

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

YAZAR(LAR) İÇİN MAKALE KONTROL LİSTESİ

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

EDITORIAL POLICY

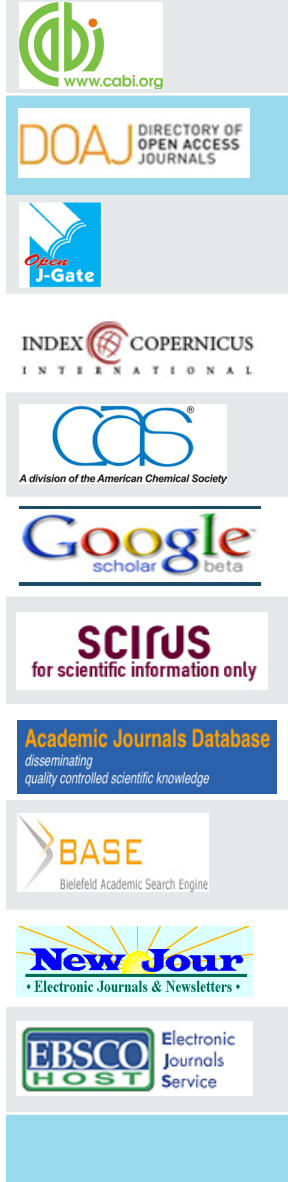
- The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology is a publication of the “Public Health Institute of Turkey (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu)” of Ministry of Health. The Journal is published every three months and one volume consists of four issues.
- The journal publishes biology, microbiology,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

CHECKLIST OF THE ARTICLE FOR AUTHOR(S)

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

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

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



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

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



İLETİŞİM

CORRESPONDENCE

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

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

Sağlık Mahallesi Adnan Saygun Caddesi No: 55 Refik Saydam Yerleşkesi 06100 Sıhhiye/ANKARA - TÜRKİYE

Tel: 0312 565 55 79

Faks: 0312 565 55 91

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

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

www.turkhijyen.org

■ Araştırma Makalesi / Original Article

1. Türkiye’de içme suyu hizmetlerinin yerelde merkezileşmesinin içme suyu denetiminde mikrobiyolojik kirliliğe ve akut gastroenterit enfeksiyonu olgu hızlarına etkisi: Tekirdağ örneği
The effect of centralisation in local areas of potable water services on microbiological pollution and case rate of acute gastroenteritis infection in water control for potable water: Tekirdağ example
Duran ADA, Erkan BOZKURT, Sevinç TANRIKULU, Mahmut AKDAĞ
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.70037 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
2. Antinükleer antikor-hep-2 (ANA) testinin tarama titresi için pozitiflik değerinin belirlenmesi
Determination of cut off level for screening titer of antinuclear antibody-hep-2 test (ANA)
Neval YURTTUTAN-UYAR, Özge GÜNGÖR, Mustafa SERTESER, Işın AKYAR
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.27870 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
3. İzmir Ege Doğumevi ve Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi’ne başvuran gebe kadınlarda HBV, HCV ve HAV seroprevalansları: 2010-2011
HBV, HCV AND HAV seroprevalence in pregnant women admitted to İzmir Aegean Obstetrics and Gynecology Training and Research Hospital: 2010-2011
Şükran KÖSE, Selma GÜL, Bengül TATAR, Muzaffer TEMUR, Başak GÖL
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.39259 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
4. Reability investigations of bacteriological aspects of play dough
Oyun hamurlarının bakteriyolojik açıdan güvenilirliğinin araştırılması
Görkem DÜLGER, Emel ÇALIŞKAN, Nida KILIÇ, Handan ANKARALI
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.34603 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")
5. Üniversite öğrencileri ve ailelerinde bitkisel ürün kullanım sıklığının ve bitkisel ürün kullanımını etkileyen faktörlerin belirlenmesi
Determining the frequency use of herbal products and factors affecting the use herbal products among university students and their families
Gülşah KANER, Canan KARAALP, Nilgün SEREMET-KÜRKLÜ
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.21347 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
6. 2011-2014 yılları arasında kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiyal direnç durumları
Microorganisms isolated from blood cultures between 2011 and 2014 and their state of antimicrobial resistance
Fatma KÖKSAL-ÇAKIRLAR, Yavuz UYAR, Sinem ÖZDEMİR, Ayşe BARIŞ, Ezgi GÖZÜN-ŞAYLAN, Zafer HABİP, Hrisi Bahar TOKMAN, Nevriye GÖNÜLLÜ, Murat GÜNAYDIN, Nuri KIRAZ
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.04809 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

■ Olgu Sunumu / Case Report

7. The first Turkish case of onychomycosis caused by Chaetomium globosum in an immunocompetent patient
Türkiye’de sunulan ilk vaka; immünokompetan hastada Chaetomium globosum türünün etken olduğu tırnak onikomikozu
Fatma ÖZAKKAŞ, Rabiye ALTINBAŞ, Hafize SAV, Mert Ahmet KUŞKUCU, Kenan MİDİLLİ, Nuri KIRAZ
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.92979 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")
8. Akut lenfoblastik lösemi tanısıyla tedavi edilen hastada gelişen kateter ilişkili Ochrobactrum antropi bakteriyemisi
Catheter related Ochrobactrum antropi bacteraemia developed in patient with acute lymphoblastic leukemia who is taking chemotherapy
Güliz DOĞAN, Nisel YILMAZ, Neval AĞUŞ, Fatma Burcu BELEN, Barış MALBORA, Pınar ŞAMLIOĞLU, Sevgi YILMAZ-HANCI, Yeşer KARACA-DERİCİ, Mümtaz Cem ŞİRİN, Arzu BAYRAM
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.44712 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

■ Teknik Rapor / Technical Report

9. TS EN ISO/IEC 17025 standardı kapsamında yapılan laboratuvar denetim bulgularının değerlendirilmesi
Evaluation of audit findings performed in laboratories according to TS EN ISO/IEC 17025 Standard
Edibe Nurzen BOZKURT, Göktuğ BAYRAM, Ferda GÜLTOP, Uğur TOPCU, Nesrin GEVREK
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.04557 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

■ Derleme / Review

10. Liken metabolitlerinin antikanser aktivite etkisinin moleküler düzeydeki mekanizmaları
The molecular mechanisms of the effect of anticancer activity on lichen metabolites
Merve ŞEKERLİ, Nil KILIÇ, Demet CANSARAN-DUMAN
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.24650 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")
11. Gen terapisi yöntemleri: fiziksel ve kimyasal metotlar
Gene therapy techniques: physical and chemical methods
Azade ATTAR
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.43255 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

1 - 12



13 - 20



21 - 28



29 - 36



37 - 54



55 - 70



71 - 78



79 - 82



83 - 94



95 - 102



103 - 112



Türkiye’de içme suyu hizmetlerinin yerelde merkezileşmesinin içme suyu denetiminde mikrobiyolojik kirliliğe ve akut gastroenterit enfeksiyonu olgu hızlarına etkisi: Tekirdağ örneği

Influence of localizing drinking water services in Turkey on microbiological pollution in control of drinking water and case rates of acute gastroenteritis infection: Tekirdağ case

Duran ADA¹, Erkan BOZKURT¹, Sevinç TANRIKULU¹, Mahmut AKDAĞ¹

ÖZET

Amaç: Suyla bulaşan hastalıklarda, hastalık etkenlerinin, su kaynağında bulunabilecekleri gibi temiz suyun taşındığı yerde de suya bulaşmaları mümkündür. Bu nedenle, suyun dezenfeksiyonunda kullanılan dezenfektan etkisinin tüketiciye ulaştırılınca kadar sürmesi istenir. Bu çalışmada, Tekirdağ ilinde 2013 ve 2015 yılları için 6360 Sayılı Yeni Büyükşehir Belediyesi Yasası'nın su denetiminde mikrobiyolojik kirliliğe ve akut gastroenterit enfeksiyonu olgu hızlarına etkisinin saptanması amaçlanmıştır.

Yöntem: Tekirdağ ilinde 2013 ve 2015 yıllarına ait şebeke ve izleme noktası düzeyinde su denetimlerinin uygunluğu ve mikrobiyolojik kirliliğine ait verileri ile yine aynı yıllara ait ilçe düzeyinde akut gastroenterit olgu oranları Tekirdağ Halk Sağlığı Müdürlüğü elektronik veri tabanları üzerinden alınmıştır. Yasa öncesi ve yasa sonrası değişimi izlemek için ölçüm verilerinde Wilcoxon işaretli sıralar testi kullanılmıştır.

Bulgular: İçme suyunu izlemek için 2013-2015 yılları arasında örnek alınan 341 izleme noktası verileri çözümlenmeye alınmıştır. Bir izleme noktasından bir

ABSTRACT

Objective: In case of waterborne diseases, disease agents may be present in the source water or contaminated after the transfer of clean water. For this reason, it is desirable that the disinfectant effect used in water disinfection is continued until reaching the consumer. In this study, it was aimed to determine the effect of the New Metropolitan Municipality Law No. 6360 for the years 2013 and 2015 on microbiological pollution and acute gastroenteritis infection rate in water control in Tekirdağ province.

Methods: Compliance of the water inspections for the network and monitoring point level for 2013 and 2015 for Tekirdağ Province and microbiological pollution data and the districts belonging to the same years and the rates of acute gastroenteritis cases were obtained from Tekirdağ Public Health Directorate Databases. The Wilcoxon Signed Ranks Test was used to measure changes before and after the law.

Results: In order to monitor drinking water, 341 monitoring points sampled between 2013 and 2015 were analyzed. For samples taken within one year

¹ Tekirdağ Halk Sağlığı Müdürlüğü, Tekirdağ



İletişim / Corresponding Author : Duran ADA

Tekirdağ Halk Sağlığı Müdürlüğü, Tekirdağ - Türkiye

Tel : +90 555 603 56 26

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

Geliş Tarihi / Received : 16.04.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 16.10.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.70037

Ada D, Bozkurt E, Tanrikulu S, Akdağ M. Türkiye’de içme suyu hizmetlerinin yerelde merkezileşmesinin içme suyu denetiminde mikrobiyolojik kirliliğe ve akut gastroenterit enfeksiyonu olgu hızlarına etkisi: Tekirdağ örneği. Turk Hij Den Biol Derg, 2017; 74(1): 1-12

yıllık süre içerisinde alınmış örneklerin 2013 yılı için mikrobiyolojik kirlilik oranı %35 iken, 2015 yılı için %18'dir. İzleme noktalarından alınan örneklerde 2013-2015 yılları arasında mikrobiyolojik kirlilik oranları değerlendirildiğinde; Tekirdağ il genelinde, kırsal alanda ve kentsel alanda mikrobiyolojik kirlilik oranlarında anlamlı olarak azalma yönünde değişim görülmüştür ($p<0,05$). Yine ilçe yerleşim birimlerinde 2013-2015 yılları arasındaki mikrobiyolojik kirlilik oranları değerlendirildiğinde, Ergene, Hayrabolu, Süleymanpaşa ve Şarköy'de anlamlı azalma yönünde değişim saptanmıştır ($p<0,05$). İlçe yerleşim birimleri, kır ve kent olarak ikiye ayrılıp çözümlene yapıldığında ise Ergene, Hayrabolu, Süleymanpaşa ve Şarköy kır bölgelerinde mikrobiyolojik kirlilik oranlarında anlamlı olarak azalma yönünde değişim saptanmıştır ($p<0,05$). Bunun yanında, Süleymanpaşa kent yerleşiminde de mikrobiyolojik kirlilik oranlarında anlamlı azalma yönünde değişim saptanmıştır ($p<0,05$). Tekirdağ ilinde 2013-2015 yılları arasında ilçe ve bağlı yerleşim birimleri için akut gastroenterit enfeksiyonu oranlarında ise anlamlı değişim saptanmamıştır ($p>0,05$).

Sonuç: Yeni Büyükşehir Belediyesi Yasası ile Tekirdağ'da özellikle kırsal alanda içme suyunda mikrobiyolojik kirlilik bakımından olumlu anlamda değişim olmuştur. Benzer sonuçların diğer büyükşehir olan illerde de gözlenme durumu değerlendirilmelidir. Olumlu sonuçların önemli ölçüde gözlenmesi durumunda da su ve kanalizasyon işlemlerini yürüten kurumların yerelde merkezileşmesi, büyükşehir belediyesi kurulmamış diğer illerde de yeni düzenlemelerle gündeme getirilebilir.

Anahtar Kelimeler: içme suyu, su kirliliği, su yönetimi, mikrobiyolojik kirlilik, akut gastroenterit

from a monitoring point in 2013 microbiological pollution rate was 35% while it was 18% in 2015. When the microbiological pollution rates are evaluated in the samples taken from monitoring points between 2013 and 2015. In Tekirdağ province, rural area and urban area, there was a significant decrease in microbiological pollution rates ($p < 0.05$). When microbiological pollution rates are evaluated between 2013 and 2015 in terms of district settlements, Ergene, Hayrabolu, Süleymanpaşa and Şarköy showed a significant decrease ($p < 0.05$). When the settlement units of the district were divided into rural and urban areas and analyzed decrease in microbiological pollution rates was observed Ergene, Hayrabolu, Süleymanpaşa and Şarköy rural areas ($p < 0.05$). Besides, significant decrease was also observed in microbiological pollution rates in Süleymanpaşa urban settlement ($p < 0.05$). In the province of Tekirdağ between 2013 and 2015, no change was observed in the rates of acute gastroenteritis infection for the related to settlement units ($p > 0.05$).

Conclusion: With the New Metropolitan Municipality Act, there has been a positive change in the microbiological pollution in drinking water of Tekirdağ, especially in rural areas. Similar observations should be made in other large cities. If positive results are observed to a significant extent, local institutions that carry out water and sewerage operations can be centralized, and in the other cities where the metropolitan municipality is not established, new arrangements can be made.

Key Words: drinking water, water pollution, water management, microbiological contamination, acute gastroenteritis

GİRİŞ

Su ile ilgili hastalıklar dünyanın her yerinde farklı boyutlarda sorun oluşturma potansiyeline sahiptir. Hastalık etkenlerinin suya bulaşması durumunda ani, patlama biçiminde ve çok sayıda kişiyi etkileyen salgınlar olarak görülebilir. Nitekim ülkemizde de farklı çalışmalarda farklı mikrobiyolojik etkenlerle ve büyüklükte su ile ilişkili birçok salgın bildirilmiştir (1-5). İçme suyunda fekal kirliliğin denetim izlemesi için de tüm mikrobiyolojik etkenleri izlemek gerekli değildir.

Escherichia coli, koliform bakteriler ve enterokoklar suyun fekal kirliliğini izlemede iyi belirteçlerdendir (6, 7). Hastalık etkenleri suyun kaynağından olabileceği gibi temiz suyun taşınması esnasında da bulaşmaları mümkündür. Bu nedenle, suyun dezenfeksiyonunda kullanılan dezenfektan etkisinin tüketiciye ulaştırılınca kadar sürmesi istenir. Klorlama, bu amaçla gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde kullanılan en önemli araçtır (8). Yirminci yüzyılın başından itibaren klor kullanımıyla birlikte su ile ilişkili hastalıkların mortalitesinde ve morbiditesinde önemli azalma görülmüştür (9). Yine klorlama, ülkemizde cumhuriyetin ilk yıllarından bu yana suyun sanitasyonu amacıyla kullanılmaya başlanmış ve kullanımıyla birlikte su hijyeninde olumlu değişim kaydedilmiştir (10).

Bu çalışmanın amacı, Tekirdağ ilinde 2013 ve 2015 yılları için 6360 Sayılı Yeni Büyükşehir Belediyesi Yasası'nın yürürlüğe girmesinden önceki ve sonraki yılda su denetiminde mikrobiyolojik kirliliğe ve akut gastroenterit enfeksiyonu olgu hızlarına etkisinin saptanmasıdır (11).

GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırma, yönelem araştırması olup, araştırmanın yapılması için gerekli olan izinler Tekirdağ Halk Sağlığı Müdürlüğü'nden alınmıştır. Veri toplama ve çözümlene 01-29 Nisan 2016 tarihleri arasında yapılmıştır.

Yasal Düzenleme

Suyun tüketiciye kadar sağlıklı biçimde ulaştırılmasından 6360 No'lu Yasa öncesinde (On Üç İlde Büyükşehir Belediyesi ve Yirmi Altı İlçe Kurulması İle Bazı Kanun ve Kanun Hükmünde Kararnemelerde Değişiklik Yapılmasına Dair Kanun) köylerde il özel idare, belde, ilçe ve il merkezlerinde ise yerel belediye sorumlu tutulmuştur (11). Yasa ile birlikte 30 Mart 2014 yerel seçimleri sonrasında bu sorumluluk büyükşehir belediyesi kurulan illerde büyükşehir belediyesine geçmiştir.

Tekirdağ, Türkiye'nin kuzeybatısında ve tamamı Trakya topraklarında yer alan üç ilden birisidir. En küçüğü 20 bin, en büyüğü 250 bin olan 11 ilçe ile nüfusu 1 milyonu bulmaktadır. Ondan fazla organize sanayi bölgesi ile Türkiye'nin en önemli sanayi bölgelerinden birisidir. Sanayi bölgesi olması ve ülkedeki net göç hızının en yüksek olduğu illerden biri olması nedeniyle su kaynakları da tehdit altında olan bir bölgedir.

30 Mart 2014 yerel seçimleri sonrası Tekirdağ Büyükşehir Belediyesi'nin fiilen faaliyete geçmesi ile birlikte, belediyenin bağlı kuruluşu olan Tekirdağ Su ve Kanalizasyon İdaresi Genel Müdürlüğü (TESKİ) de kurulmuştur. TESKİ ile birlikte yapılan içme suyuna yönelik çalışmalar; il düzeyinde su havzalarını kirlenmeye karşı koruma ve güvenli işletilmesine yönelik çalışmalar, dağıtım sistemi üzerindeki tüm makine, tesis ve ekipmanların bakım, onarım ve iyileştirmesini yapmaya yönelik çalışmalar, sağlıklı su temini için belirlenmiş kontrol noktalarında analiz ve dezenfeksiyonu yürütmeye yönelik çalışmalardır.

Veri Kaynakları

Tekirdağ ili için 2013 ve 2015 yılına ait şebeke ve izleme noktası düzeyinde su denetimlerinin uygunluğu ve mikrobiyolojik incelemeye ait verileri ile yine aynı yıllara ait ilçe düzeyinde A09, K52, R11 ICD 10 (Uluslararası hastalık sınıflandırılması)

kodlarında olgu sayıları Tekirdağ Halk Sağlığı Müdürlüğü'nden elektronik veri tabanları üzerinden alınmıştır. Akut gastroenterit enfeksiyonu (AGE) olgu hızları hesaplanırken kullanılan ilgili yıllara ait nüfus bilgileri, Türkiye İstatistik Kurumu'nun web sayfasından alınmıştır (12).

Değişkenler

Su denetimi için yapılan çözümlemede, bağımlı değişken mikrobiyolojik kirli örnek oranı iken, bağımsız değişkenler ilçe birimi ve yerleşim özelliğidir. Mikrobiyolojik kirli örnek oranı; bir yıl içerisinde izleme noktasından alınmış su örneklerinde üreyen mikrobiyolojik etkenin türünden ve miktarından bağımsız olarak saptanmış mikrobiyolojik kirli örnek sayısının o yıl için alınan toplam örnek sayısına oranıdır. Örneğin, 2013 yılı için bir izleme noktasından o yılda on örnek alınmış ve ikisi kirli saptanmışsa mikrobiyolojik kirli örnek oranı %20'dir. Çözümlemeye iki yıl arasındaki yüzde değişim alınmıştır. Yerleşim özelliği için ilçe merkezinde bulunan izleme noktaları kent, diğer yerleşim birimleri kır olarak tanımlanmıştır. AGE için yapılan çözümlemede, bağımlı değişken AGE oranı iken, bağımsız değişken ise yaş grubudur.

Çözümleme

Araştırmada ölçümle belirtilen tanımlayıcı değişkenler için ortalama, ortanca, en düşük değer ve en yüksek değer kullanılmıştır. Verilerin dağılım özelliklerinin değerlendirilmesinde ise Kolmogorov-Smirnov testi kullanılmıştır. Yasa öncesi ve yasa sonrası değişimi izlemek için ölçüm verilerinde Wilcoxon işaretli sıralar testi kullanılmıştır. Yasa ile birlikte ayrıca Tekirdağ ilinde Kapaklı ve Ergene ilçeleri de kurulmuştur. Elektronik veri tabanlarında su denetimleri için bu ilçelere ait veriler 2013 ve 2015 yıllarının her ikisi için de izlenebilmesi nedeniyle su denetimi çözümlemesinde ayrı ilçeler olarak ele alınmıştır. Ancak AGE için yapılan çözümlemede, bu ilçelere ait AGE olgu sayıları ve ilçelere ait nüfus yasal düzenleme öncesi dahil oldukları ilçelerin hanesine

katılarak yapılmıştır. Çözümlemede, SPSS 15,0 istatistik paket programı kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyi 0,05 olarak tanımlanmıştır.

BULGULAR

İçme suyunu izlemek için hem 2013-2015 yılında izleme noktalarından örnek alınan 341 izleme noktası bulguları bulunmaktadır. Tüm örnekler için sonuç değerlendirildiğinde 2013 yılı için çözümlemeye alınan 1484 örnek içinde kirli örnek oranı %39,8 iken, 2015 yılı için çözümlemeye alınan 1434 örnek içinde mikrobiyolojik kirli örnek oranı %21,8'dir.

Bir izleme noktasından bir yıllık süre içerisinde alınmış örneklerin 2013 yılı için mikrobiyolojik kirlilik oranı %35 iken, 2015 yılı için %18 olduğu belirlenmiştir. İzleme noktalarında 2013 yılı için ortalama 4,4 örnek değerlendirilirken, 2015 yılı için izleme noktalarından alınan örnek sayısı ortalaması 4,2'dir (Tablo 1).

İzleme noktalarından alınan örneklerde 2013-2015 yılları arasında mikrobiyolojik kirlilik oranları değerlendirildiğinde Tekirdağ il genelinde, kırsal alanda ve kentsel alanda mikrobiyolojik kirlilik oranlarında anlamlı olarak değişim görülmüştür ($p<0,05$). Yine ilçe yerleşim birimleri 2013-2015 yılları arasında mikrobiyolojik kirlilik oranları değerlendirildiğinde, Ergene, Hayrabolu, Süleymanpaşa ve Şarköy'de anlamlı olarak değişim saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 2). İlçe yerleşim birimleri, kır ve kent olarak ikiye ayrılıp çözümleme yapıldığında ise Ergene, Hayrabolu, Süleymanpaşa ve Şarköy kır bölgelerinde anlamlı olarak mikrobiyolojik kirlilik oranlarında değişim saptanmıştır ($p<0,05$). Bunun yanında, Süleymanpaşa kent yerleşiminde de anlamlı olarak mikrobiyolojik kirlilik oranlarında değişim saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 3).

Tablo 4'de Tekirdağ ilinde 2013 ve 2015 yıllarında ilçe ve bağlı yerleşim birimleri için AGE olgu hızları yer almaktadır. Tekirdağ ilinde 2013-2015 yılları arasında ilçe ve bağlı yerleşim birimleri için AGE olgu hızlarında ise anlamlı olarak değişim saptanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 1. Tekirdağ ilinde 2013 ve 2015 yılları için izleme noktalarında mikrobiyolojik kirlilik açısından su denetimleri (n=341)

	Ortalama \pm SS*	Ortanca	En Düşük	En Yüksek
2013 Toplam İzlem Sayısı	4,4 \pm 2,2	4	1	13
2013 Toplam Mikrobiyolojik Kirli Örnek Sayısı	1,7 \pm 1,9	1	0	10
2015 Toplam İzlem Sayısı	4,2 \pm 2,3	4	1	16
2015 Toplam Mikrobiyolojik Kirli Örnek Sayısı	0,9 \pm 1,6	0	0	7
2013 Mikrobiyolojik Kirli Örnek Oranı (%)	35,1 \pm 34,8	33,3	0	100
2015 Mikrobiyolojik Kirli Örnek Oranı (%)	18,2 \pm 29,9	0	0	100

*Standart sapma

TARTIŞMA

Bu çalışmanın en önemli bulgusu, 6360 Sayılı Yeni Büyükşehir Belediyesi Yasası ile izleme noktalarında mikrobiyolojik kirli örnek oranının yasal düzenleme öncesine göre azalması ve bu azalmanın da kırsal alanda daha çok gözlenmesidir.

Yapılan araştırmada, izleme noktalarından bağımsız olarak tüm numuneler değerlendirildiğinde; 2013 yılı için kirli örnek oranı %39,8 ile oldukça yüksek bir orana sahiptir. Nitekim, Avcı ve ark. (13) çalışmasında; Malatya il genelinden merkez ve ilçelerde su örnekleri değerlendirildiğinde, mikrobiyolojik kirlilik nedeniyle su örneklerinin

%30,2'si içilemez düzeyde bulunmuştur. Edirne il genelinde su örneklerinin %14,8'i mikrobiyolojik kirli örnek olarak değerlendirilmiştir (14). Kars ve Sarıkamış askeri birliklerinde kullanılan içme sularının mikrobiyolojik kalitesi değerlendirildiğinde, su örneklerinin %30'unda *E. coli* izole edilmiştir (15). Bitlis merkez ve ilçelerindeki içme sularından toplam 164 örneğin sonucunda; %30'u enterokok, %12'si koliform, ve %8'i *E. coli* yönünden örnekler kirli bulunmuştur (16). Yine Kilis ili şebeke sularının mikrobiyolojik analizleri içme suyu kalitesi bakımından incelendiğinde; doksan örnekten beş tanesinin mikrobiyolojik kirlilikten dolayı içmeye

Tablo 2. Tekirdağ ilinde 2013-2015 yılları arasında genel, kır-kent ve ilçe yerleşim birimlerine göre izleme noktalarında mikrobiyolojik açıdan su denetimlerinin yüzde değişimi

		n	2013 Ortanca/Ortalama	2015 Ortanca/Ortalama	p değeri*
Tekirdağ İli		341	33,3/35,1	0/18,2	<0,001
Yerleşim yeri türü	Kır	231	50,0/45,6	0/24,6	<0,001
	Kent	110	0/12,9	0/4,7	<0,001
İlçe	Çerkezköy	14	0/7,3	0/6,0	0,317
	Çorlu	44	0/5,3	0/3,2	0,398
	Ergene	21	0/19,8	0/2,0	0,004
	Hayrabolu	42	50,0/40,8	0/9,7	<0,001
	Kapaklı	12	5,0/15,3	0/3,8	0,125
	Malkara	35	0/31,5	0/25,7	0,338
	Marmara E.	13	0/32,3	0/14,1	0,258
	Muratlı	18	0/13,9	0/3,3	0,168
	Saray	26	45,0/42,5	30,1/31,5	0,040
	Süleymanpaşa	78	50,0/54,7	28,6/32,9	<0,001
	Şarköy	38	64,6/56,9	0/24,7	<0,001

*Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi

Tablo 3. Tekirdağ ilinde 2013-2015 yılları arasında merkez ilçe ve bağlı yerleşim birimleri izleme noktalarında mikrobiyolojik açıdan su denetimlerinin yüzde değişimi

Yerleşim Yeri	Yerleşim Özelliği	n	2013 Ortanca/ Ortalama	2015 Ortanca/ Ortalama	*p değeri
Çerkezköy	Kır	6	0/9,5	0/6,7	0,317
	Kent	8	0/5,6	0/5,6	1,000
Çorlu	Kır	8	16,7/26,3	0/12,3	0,463
	Kent	36	0/0,7	0/0	0,317
Ergene	Kır	13	20,0/29,4	0/3,3	0,007
	Kent	8	0/4,2	0/0	0,317
Hayrabolu	Kır	37	50,0/46,3	0/11,0	<0,001
	Kent	5	0/0	0/0	1,000
Kapaklı	Kır	7	0/16,7	0/4,8	0,257
	Kent	5	10,0/13,3	0/2,5	0,109
Malkara	Kır	24	0/33,8	0/25,0	0,266
	Kent	11	0/26,7	0/27,3	0,893
Marmara E.	Kır	9	0/30,0	0/20,4	0,598
	Kent	4	25,0/37,5	0/0	0,180
Muratlı	Kır	12	0/15,3	0/5,0	0,332
	Kent	6	0/11,1	0/0	0,317
Saray	Kır	22	50,0/45,4	33,3/37,3	0,121
	Kent	4	23,8/26,9	0/0	0,109
Süleymanpaşa	Kır	63	60,0/61,0	40,0/38,3	<0,001
	Kent	15	28,6/28,6	0/10,5	0,018
Şarköy	Kır	30	74,6/65,4	16,7/31,3	0,001
	Kent	8	25,0/25,3	0/0	0,042

*Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi

Tablo 4. Tekirdağ ilinde, 2013 ve 2015 yıllarında ilçe ve bağlı yerleşim birimleri için akut gastroenterit enfeksiyonu olgu hızları (binde)

	n	Ortalama ± SS	Ortanca	En Düşük	En Yüksek	*p değeri
2013 0-59 Aylık AGE Oranı	9	15,5 ± 8,9	14,5	1,5	26,2	0,859
2015 0-59 Aylık AGE Oranı	9	16,3 ± 3,5	14,8	13,0	23,2	
2013 5 Yaş ve Üzeri AGE Oranı	9	73,3 ± 50,6	67,1	7,5	161,1	0,260
2015 5 Yaş ve üzeri AGE Oranı	9	89,1 ± 28,8	90,4	52,0	144,3	

*Tekirdağ ilinde 2013-2015 Yılları Arasında İlçe ve Bağlı Yerleşim Birimleri İçin Akut Gastroenterit Enfeksiyonu Olgu Hızları Değişimi, Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi

uygun olmadığı tespit edilmiştir (17). Türkiye’de yapılmış diğer il sonuçları ile karşılaştırıldığında; Tekirdağ 2013 yılı verileri ile mikrobiyolojik kirlilik oranı en yüksek il olmuştur. Ancak 2014 yılında 6360 Sayılı Yeni Büyükşehir Belediyesi Yasası olarak da adlandırılan yasa sonrasında, Tekirdağ’da 2015 yılı için mikrobiyolojik kirlilik oranı %21,8 ile diğer illere daha yakın bir orana inmiştir.

İzleme noktalarından bir yıllık süre içerisinde alınmış örnekler değerlendirildiğinde; mikrobiyolojik kirlilik oranında olan olumlu değişim, hem ilçe merkezlerinde hem de kırsal alanda anlamlı olarak gözlenmiştir. Büyükşehir Belediyesi Yasası sonrası saptanan bu gelişme, temel olarak kırsal alanda ve il yönetiminin yani büyükşehir belediyesinin bulunduğu Süleymanpaşa ilçesi kent merkezinde görülmüştür. Sonuçlar incelendiğinde, genel olarak izleme noktalarındaki mikrobiyolojik kirlilik oranı hem 2013 hem de 2015 yılları için kırsal alanda en yüksek bulunmuştur. Kırsal alanda kirlilik oranı daha

yüksek olduğu için yasa sonrası sonuçlarda görülen iyileşmenin de kırsal alanda daha çok gözlemlendiği söylenebilir. Bu iyileşmenin tüm yerleşim yerlerinde gözlenmemesinde, kurumun öncelikleri ya da hizmet sunum planının etkisinin olduğu düşünülebilir. Nitekim, hem kırsal izleme noktasının hem de kirlilik oranının en yüksek olduğu ilçelerden olan Saray ve Malkara’da ise yasa sonrası izlemlerdeki iyileşme anlamlı değildir. Yine bu hizmet sunumunda Süleymanpaşa’nın yasa öncesinde kirlilik oranının en yüksek olduğu ilçe merkezi olduğu da göz önünde bulundurulmuş olabilir. Nitekim kurumun içme suyu projeleri birçok yerleşim biriminde planlanmaya devam etmektedir (18).

Kentsel alanlarda içme sularındaki mikrobiyolojik kirlilik oranlarının kırsal alana göre daha düşük olduğu farklı araştırmalarda gözlenmiştir. Düşük ve orta gelirli ülkelerde, kırsal ve kentsel bölgeler için önemli farklılıklar vardır. Kırsal alanlarda bulaş 2,4 kat anlamlı olarak fazladır (19). Malatya’da coğrafi

özelliklerine göre gruplandırılan ilçe bölgeleri esas alınarak yapılan analizde, kirlilik düzeyleri yönünden bölgeler arasında fark bulunmuş ve köylerden merkeze doğru azalan bir kirlilik düzeyi tespit edilmiştir. Uygunsuzluk tespit edilen örneklerin %77,7'si köylere, %12,8'i beldelere, %9,5'si ise ilçe merkezlerine ait olduğu görülmüştür (13). Yine Edirne'de kentsel alanlardan alınan içme suyu örneklerinin %5,4'ü, kırsal alanlardan alınan örneklerin ise %17,8'i mikrobiyolojik açıdan kirlidir (14). Ayrıca Erzurum il merkezindeki okullardaki sular mikrobiyolojik yönden incelendiğinde de, su örneklerinin hiçbirinde mikrobiyolojik kirlilik saptanmamıştır (20). Farklı olarak, Bitlis'de içme suları için mikrobiyolojik kirliliğin yerleşim yeri özelliği, koliform bakteri ve *E. coli* için anlamlı değilken, en sık saptanan etken olan enterokok için ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (16). O halde temel olarak yasanın Tekirdağ ilinde kırsal alan su kirliliğini azaltarak olumlu çıktıyı sağladığı söylenebilir. Bu kapsamda kırsal alan içme suyu özelliklerini düşünmek gerekir. Hindistan'da yapılan bir çalışma sonucunda; kırsal alanda su kirliliği için neden olarak kötü sanitasyon uygulamaları ve bilgi eksikliği gösterilmektedir (21). Yine Güney Afrika'da kırsal alanda su güvenliğinin sağlanamamasının temel nedenleri olarak pompa bozulması, depolama sorunları gibi teknik nedenler, halkın kabul edebileceği özellikte su sağlanamaması ama en önemlisinin de yetersiz izleme ve su yönetim sorunlarının olduğu düşünülmektedir (22). Ülkemizde ise yasa öncesinde kırsal alanlardaki içme suyu hizmetlerindeki temel sorunlar; köylerde içme suyu depolarının teslimi muhtarın sorumluluğuna bırakılarak buraların bir daha bakımının üstlenilmemesi, su depolarının temizliğinin yapılmaması, su deposundan tüketim miktarına göre yeniden klorlamanın yapılmaması, su depolarının havalandırılmaması ve dışarıdan gelebilecek canlı ya da insana karşı tel örgü, kilit gibi korunakların yapılmaması, şebeke hattının bakımının yapılamaması, içme suyu şebeke hattını ya da su kaynağını etkileyebilecek hayvan barınağı, fosseptik çukur, hayvan gübresi gibi birikim ya da

yapılanmaların olmasıdır.

Kısaca, teknik personelin yerel düzeyde eksikliği, donanım yetersizliği, konuya yönelik halk eğitimi çalışmalarının yerine getirilememesidir. Olanakların olduğu büyükşehirlerde durum ise, içme suyu kalitesi yönetimi olarak ele alınmakta ve içme suyu kaynağından son tüketicilerin musluğuna kadar bir bütün halinde ele alınmaktadır (23-25). Ayrıca mikrobiyolojik kirlilik için kullanılan göstergeler fekal kirlilik için uygulanmaktadır. Ancak salgınların insanlığa öğrettiği şey, parazit ve virüsler dezenfeksiyona karşı daha dirençli olabilir. Bakteriyel göstergelerle elde edilen bilgilerin sürekli ve anlık olmadığı gerçeği ile su güvenliği planları gibi daha koruyucu yaklaşımların geliştirilmesi gerekmektedir (26). Nitekim her ne kadar salgın hastalıkların görülmemesi nedeniyle mevcut su kalitesinin yeterli olacağı düşünülse de bildirilmeyen gastrointestinal hastalıkların %35'i uygun su kalitesini karşılamayan içme suyu tüketimine bağlı olduğu görülmektedir (27).

Araştırma bulgularına göre, Yeni Büyükşehir Belediyesi Yasası'nın, yani su ve kanalizasyon hizmetlerinin tek elde toplanmasıyla birlikte bu hizmetlere bölge yönetimi anlayışıyla ve bütüncül yaklaşım, il genelindeki hizmet kalitesindeki farklılıkların azaltılmasını ve hizmetlerin geliştirilmesini sağlayabileceği söylenebilir. Böylece gelecek dönemde en temel hizmet olan suyun mikrobiyolojik açıdan uygunluğu yakalanabilir.

Kısıtlılıklar

Yıllara göre su denetiminin yapıldığı izleme noktaları değişmiş olabilmektedir. Bu nedenle de 2013 yılı içerisinde izleme noktası olmasına rağmen 2015 yılında aynı izleme noktalarından denetim yapılmadığı için 79 (%18,8) izleme noktası çözümlenme dışında kalmıştır. Yine bu değişime eş olarak izleme noktalarında denetim sayıları da değişebilmektedir.

İçme suyu denetimi için yürütülen denetim hizmetlerinde temel olarak yürütücü Tekirdağ

Halk Sağlığı Müdürlüğü ve bağlı birimleridir. Yani numunenin alımını ve laboratuvarda analizini halk sağlığı birimleri yapmaktadır. Ancak 2013 yılı için köylerden alınan numunelerin analizleri o dönemki il özel idaresi birimince yapılmıştır. Ancak laboratuvar açılması Sağlık Bakanlığı iznine tabii olmuştur. Ayrıca ilde kurulan laboratuvar hizmetleri için eğitim ve sonuçların karşılaştırılabilmesi için eşgüdüm yine Tekirdağ Halk Sağlığı Müdürlüğü'nce sağlanmıştır. Köylerden alınan numunelerin 2015 yılı için analizleri de Tekirdağ Halk Sağlığı Müdürlüğü hizmetleri kapsamındadır.

AGE ve benzeri durumlar, ilgili ICD kodları ile izlenmektedir. Bu kodlarla izlenen durum, suyun yanında gıda ya da başka bir hastalık veya etkilenim nedeniyle de oluşabilmektedir. Ancak AGE'yi doğrudan su ile ilişkilendirebilecek bir sürveyans sistemi olmadığı için içme suyu ve hastalık ilişkisini, büyük çaplı salgınlar dışında saptayabilme ve değerlendirebilme olanağı yoktur. Ayrıca çözümlenmeye alınan sonuçlar ilçe

düzeyinde değerlendirilebildiği için yalnız dokuz veri olarak çözümlenmeye alınabilmiştir. Dolayısıyla etki varsa bile örnek büyüklüğünün küçük olması nedeniyle etkiyi saptayabilmek oldukça güçtür. Eğer hastalar, tanı kodunun yanında adres bilgisi ile de tanımlanabilmiş olsaydı, olası değişim gözlemlenebilirdi. Ek olarak, aynı dönemde aynı hastalık nedeniyle birden fazla sağlık kuruluşuna birden fazla başvuru olabilmektedir. Mevcut verilerle mükerrer başvurular ayırt edilememektedir.

Sonuç olarak, 6360 Sayılı Yeni Büyükşehir Belediyesi Yasası ile Tekirdağ'da özellikle kırsal alanda içme suyunda mikrobiyolojik kirlilik bakımından olumlu anlamda değişim olmuştur. Benzer çıktıkların diğer büyükşehir olan illerde de gözlenme durumu değerlendirilmelidir. Olumlu çıktıkların önemli ölçüde gözlenmesi durumunda da su ve kanalizasyon işlemlerini yürüten kurumların yerelde merkezleşmesi, büyükşehir belediyesi kurulmamış diğer illerde de yeni düzenlemelerle gündeme getirilebilir.

TEŞEKKÜR

Veri paylaşımı nedeniyle Tekirdağ Halk Sağlığı Müdürlüğü çalışanlarına ve araştırma tasarımı konusunda yardımı ile Dr. Mestan EMEK'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Sevimli FS, Kayalı R, Buyurgan V, Ceran A, Ertek M. Antalya ili Finike ilçesi ishal vakalarında artışın değerlendirilmesi, Eylül 2007. Türk Hij. Den. Biyol. Derg, 2007; 64 (3): 1-3.
2. Avcı K, Akgün L, Özçelik R, Elbi H, Altındış M. Bir hepatit A salgınının incelenmesi; Afyonkarahisar, Kocaöz kasabası, 2013. Viral Hepat J, 2013; 19 (1): 58-61.
3. Odabaş Y, Topbaş M, Kazaz S, Sünbül Ş, Çan G. Trabzon Vakfıkebir ilçesi akut gastroenterit salgını incelemesi - Kasım 2006. Kor Hek, 2007; 6 (4): 233-41.
4. Kösekahya A, Özarslan F, Çoban SÇ, Altuğ Y, Levent B, Yılmaz M ve ark. Kütahya il merkezinde su kaynaklı gastroenterit salgını, Ekim 2014. 18. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi. Ekim, 5-9, Konya. 2015.
5. Pehlivan E, Özen G, Güneş G, Karaoğlu L, Türkol E, Eğri M. Malatya ishal salgını (2005): retrospektif inceleme. İnönü Üni Tıp Fak Derg, 2009; 16 (4): 213-21.
6. Scott TM, Rose JB, Jenkins TM, Farrah SR, Lukasik J. Microbial source tracking: current methodology and future directions. Appl Microbiol, 2002; 68 (12): 5796-803.
7. Edberg SC, Rice EW, Karlin RJ, Allen MJ. Escherichia coli: The best biological drinking water indicator for public health protection. Symp Ser Soc Appl Microbiol, 2000; (29): 106-16.
8. Güler Ç. İçme suyu dezenfeksiyonu. Çevre Sağlığı (Çevre ve ekoloji bağlantılarıyla). 1. Baskı. Ankara: Yazıt Yayıncılık, 2012: 285-396.
9. Oğur R, Güler Ç. 21.nci yüzyılda niçin klorlama? TAF Prev Med Bull, 2004; 3 (8): 186-95.
10. Gotschlich. Ankara sularının sıhileştirilmesi. Türk Hıfzıssıhha ve Tecrubi Biyoloji Mecmuası, 1938: 1 (2): 7-22.
11. Anonymous. 6360 Sayılı Kanun. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2012/12/20121206-1.htm>. (11.04.2016).
12. Anonymous. Nüfusa kayıtlı olunan ilçeye göre ikamet edilen il. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=95&locale=tr>. (05.04.2016).
13. Avcı HH, Pehlivan E, Avcı S, Selcuk EB. Evaluation of results of control monitoring in drinking water from aspect of public health in Malatya province. J Turgut Ozal Med Cent, 2014; 21: 21-6. DOI: 10.7247/jtomc.2013.858.
14. Ay G, Boztaş NG, Paşa N, Şahin B, Çalışkan T. Edirne ili 2013 yılı içme ve kullanma sularının mikrobiyolojik yönden değerlendirilmesi. 17. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi, Ekim, 20-24, Edirne. 2014.
15. Kireççi E, Savaşçı M, Uslu H. Kars ve Sarıkamış çevresindeki içme suyu kaynaklarından membran filtrasyon yöntemi ile Escherichia coli izolasyonu. Atatürk Üni Vet. Bil. Derg, 2006; 1 (1-2): 29-32.
16. Alemdar S, Kahraman T, Ağaoğlu S, Alışarlı M. Bitlis ili içme sularının bazı mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özellikleri. Ekoloji, 2009; 19 (73): 29-38.
17. Yelekçi S, Acemioğlu B, Avcı H. Kilis il merkezi içme sularının kullanılabilirliğinin araştırılması. BİBAD, 2012; 5 (2): 77-81.
18. Anonymous. Teski 2016 yılı yatırım programları. http://www.teski.gov.tr/t-dosyalar/genel/2016_yatirim_programi.pdf. (08.04.2016).
19. Bain R, Cronk R, Wright J, Yang H, Slaymaker T, Bartram J. Fecal contamination of drinking-water in low-and middle-income countries: A systematic review and meta-analysis. PLoS Med, 2014; 11 (5): e1001644.
20. Yılmaz A, Uslu H, Ayyıldız A. Erzurum merkezindeki bazı okullardaki lavabo-tuvalet muslukları ve sularının mikrobiyolojik yönden incelenmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2014; 71 (2): 75-80.
21. Suthar S, Chhimpa V, Singh S. Bacterial contamination in drinking water: A case study in rural areas of northern Rajasthan, India. Environ Monit Assess, 2009; 159 (1-4): 43-50.

22. Mackintosh G, Christine C. Failure of rural schemes in South Africa to provide potable water. *Environ Geol*, 2003; 44 (1): 101-5.
23. Aydın D, Akça L. İçme suyu dağıtım sistemlerinde coğrafi bilgi sistemi tabanlı su kalitesi yönetimi-İstanbul örneği. *İTÜ Derg*, 2007; 17 (3): 45-54.
24. Anonymous. Coğrafi bilgi sistemi. <http://www.kaski.gov.tr/haber.asp?id=4>. (11.04.16).
25. Özden T, Demirbaş E, Demirel İ. Su kaçaklarının coğrafi bilgi sistemi tabanlı tespiti: Antalya su ve atık su genel müdürlüğü uygulamaları. TMMOB Coğrafi Bilgi Sistemleri Kongresi. Kasım, 2-6, İzmir. 2009.
26. Figueras M, Borrego JJ. New perspectives in monitoring drinking water microbial quality. *Int J Environ Res Public Health*, 2010; 7 (12): 4179-202.
27. Payment P, Richardson L, Siemiatycki J, Dewar R, Edwardes M, Franco E. A randomized trial to evaluate the risk of gastrointestinal disease due to consumption of drinking water meeting current microbiological standards. *Am J Public Health*, 1991; 81 (6): 703-8.

Antinükleer antikor-hep-2 (ANA) testinin tarama titresi için pozitiflik değerinin belirlenmesi

Determination of cut off level for screening titer of antinuclear antibody-hep-2 test (ANA)

Neval YURTTUTAN-UYAR¹, Özge GÜNGÖR², Mustafa SERTESER³, Işın AKYAR⁴

ÖZET

Amaç: ANA sağlıklı kişilerde pozitif gözlenebilmekte ve dilüsyon titresi arttıkça sağlıklı kişilerde görülme sıklığı azalmaktadır. Son yıllarda, dünyada 1:160 tarama titresinin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Özellikle CDC (ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi) ve WHO (Dünya Sağlık Örgütü)'nun 1:160 titresini önermesinden sonra kullanımı artmıştır. Ülkemizde ise 1:100 tarama titresi kullanılmaktadır. Bu çalışmada amacımız; ülkemizde 1:160 tarama titresinin kullanımının uygunluğunu araştırmaktır.

Yöntem: Çalışmamıza; Acıbadem hastanelerine kan bağışi yapmak amacıyla Ocak - Şubat 2015 tarihleri arasında başvuran ve hazırlanan "Onam Formunu" onaylayan 200 sağlıklı kan dönörü ile birlikte aynı tarihlerde Acıbadem hastanelerinde oto immün hastalık tanısı yeni almış veya takipte olan ve söz konusu Formu onaylayan 200 hasta olmak üzere toplam 400 hasta katılmıştır. Donör ve hastalardan alınan serum numunelerinden ANA testi 1:100 ve 1:160 dilüsyonlarında çalışılmıştır. Donör ve hastalardan yapılan ANA Hep-2 testi sonucunda testin duyarlılık ve özgünlüğü hesaplanmıştır. Testin optimum cut-off değeri, ROC curve analizi ile belirlenmiştir.

ABSTRACT

Objective: It is important to choose the correct screening titer in immunofluorescent assay for ANA. Recently, the use of 1:160 titer became widespread in the world, particularly after the suggestion of CDC (Centers for Disease Control and Prevention) and WHO (World Health Organisation). In our country, 1:100 is the mostly used titer for screening as a cut off point. In this study, our aim was to investigate the convenience of suggested 1:160 screening titer for our country.

Methods: In order to donate blood 200 out of 400 patients who are healthy blood donors confirmed consent form and applied to between January and February 2015. The rest of the patients has been diagnosed or followed autoimmune rheumatic diseases for the first time and approved the form. ANA test which is taken from the serum samples of the donors and patients worked by 1:100 and 1:160. It was figured out the sensitivity and specificity of the ANA as a result of ANA Hep-2 test taken from by donors and patients. Besides cut-off values of the test was determined with ROC curve analyse.

¹Acıbadem Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, İstanbul

²Acıbadem Labmed Klinik Laboratuvarları, İstanbul

³Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, İstanbul

⁴Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul



İletişim / Corresponding Author : Neval YURTTUTAN-UYAR

Kerem Aydınlar Kampüsü Kayışdağı Cad. No: 32 Ataşehir İstanbul - Türkiye
Tel : +90 530 614 31 81 E-posta / E-mail : nevaluyar@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 19.07.2016
Kabul Tarihi / Accepted : 21.07.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.27870

Yurtutan-Uyar N, Güngör Ö, Serteser M, Akar I. Antinükleer antikor-hep-2 (ANA) testinin tarama titresi için pozitiflik değerinin belirlenmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(1): 13-20

Bulgular: Antinükleer antikor Hep-2 pozitiflik sıklığı sağlıklı grupta %8 iken, hasta grupta %96 olarak bulunmuştur. Sağlıklı grupta ANA titre pozitifliğinin dağılımı; 1:100 titrede %44, 1:160'da %37, 1:320'de %13, 1:640'da %6 tespit edilmiştir. Sağlıklı grupta 1:160 titrede ANA patern dağılımı ise yoğun ince benek (DFS70 benzeri) %56, benekli %25, nükleolar %12,5, sentromer %6,5 olarak belirlenmiştir. Hasta grupta ANA titre pozitifliğinin dağılımı ise 1:100 titrede %0,5, 1:160 titrede %3, 1:320'de %26, 1:640'da %25, 1:1280'de %34,5, 1:2560'da %8, 1:5120'de %3 olmuştur. Hasta grupta 1:160 titrede ANA patern dağılımında; benekli %55, homojen %24, nükleolar %11, sentromer %5, nükleer nokta %3, nükleer membran %2 olarak tespit edilmiştir. Çalışmamız sonucunda, sağlıklı grupta en fazla DFS70 paterni tespit edilmiş ve DFS70 paterni bir hastalıkla ilişkilendirilmemiştir. 1:100 tarama titresinde duyarlılık % 87,2 ve özgüllük % 67,7 tespit edilmişken; 1:160 tarama titresinde duyarlılık % 74 ve özgüllük % 85,8 olarak belirlenmiştir. 1:160 titrede özgüllük artarken, duyarlılığın azaldığı bulunmuştur. ROC curve analizi sonucunda önerilen optimum cut-off değeri 1:160 olarak tespit edilmiştir.

Sonuç: Bu çalışmada; ANA testi ROC curve analizi sonucuna göre 1:160 tespit edilmiştir. ICAP' ın önerdiği tarama titresi ile uyumludur. Ancak daha geniş bir popülasyonu içeren bir grup ile çalışma önerilir.

Anahtar Kelimeler: ANA, 1:160, titre, IFA, IIF

Results: In healthy group the frequency of positivity is 8%, whereas in patients group it is 96%. In healthy group distribution of ANA titer positivity is: in 1:100 titer 44 %, in 1:160 37%, in 1:320 13% and in 1:640 6%. In healthy group in 1:160 distribution of ANA patern is: dense fine speck (dfs 70) 56%, speckled 25%, nucleolar 12,5%, centromere 6.5%. In patients' group distribution of ANA titer positivity is: in 1:100 0,5%, in 1:160 3%, in 1:320 26%, in 1:640 25%, in 1:280 34,5%, in 1:2560 8% and in 1:5120 3%. In patients group in 1:160 distribution of ANA patern is: speckled 55%, homogeneous 24%, nucleolar 11%, centromere 5%, nuclear dots 3% and nuclear membrane 2%. As a result of this study in healthy group, the most common patern is dense fine speck (dfs 70) and In patients' group is homogenous and speckled as expected. At 1:100 titer screening, sensitivity is 87,2 and specificity is 67,7 and At 1:160 titer screening, sensitivity is 74 and specificity is 85,8. According to ROC curve analysis 1:160 titer is detected.

Conclusion: In this study, the screening titer of 1:160 for ANA test was confirmed by ROC Curve analyse. The screening titer of 1:160, as proposed by ICAP. It has been proposed to study a large group including more population.

Key Words: ANA, 1:160, titre, IFA, IIF

GİRİŞ

Sistemik otoimmün hastalıkların taranması amacıyla en sık kullanılan parametre anti-nükleer antikor (ANA) testidir (1, 2). Anti-nükleer antikorlar, hücre çekirdeğinde bulunan farklı antijenleri hedefleyen çok geniş bir oto antikor grubunu içermektedir. İnsan epidermoid larinks karsinom (HEp-2) hücreleri kullanılarak gerçekleştirilen indirekt immünflorasan (IIF) yöntemi ANA saptanmasında kullanılan en duyarlı ve altın standart olarak kabul edilen bir yöntemdir (3, 4). Bu yöntemle elde edilen sonuçların güvenilir olması hastalık tanısı açısından büyük önem taşımaktadır (1). ANA varlığı yanında sitoplazmada/mitotik hücrelerde bulunan yapılara karşı oluşabilen oto antikorların varlığı da belirlenebilmektedir. HEp-2 hücre serisinde nükleer antijenlerin anlamlı ölçüde bulunması tanı duyarlılığını artırmaktadır. Ancak bu duyarlılık artışı özgüllükte bir azalmayı da beraberinde getirmiştir. Çok sayıda sağlıklı kişi ve diğer hastalık tanısı olan kişilerde de ANA pozitifliği saptanması üzerine ANA pozitifliği için daha yüksek bir sınır değer kullanımı gündeme gelmiştir. Güncel kılavuzlar otoimmün sistemik hastalık tanısı için ANA sınır değeri olarak $>1/160$ titreyi öngörmektedir (5, 6). Aynı zamanda HEp-2 hücreleri, her seride benzer özellikte olduğundan ANA saptanmasında diğer dokulara göre daha standart bir ortam sağlamaktadır. HEp-2 hücre serilerinde anti-ribosomal P protein antikorları (anti-Rib-P), anti-SS-A/Ro antikorları ve anti-Jo-1 antikorları genellikle düşük düzeyde eksprese olduğundan “yalancı negatif” sonuçlarla karşılaşılabilir (3, 5).

Pozitif ANA sonucunun tanı koydurucu rolü hastalıklara göre değişmektedir (4). Anti nükleer antikor, sistemik lupus eritematozus (SLE) tanısında yaklaşık %93 duyarlılık ve %57 özgüllük göstermektedir. Negatif ANA sonucu SLE’yi dışlamada çok değerlidir. Ancak ANA pozitifliği sağlıklı popülasyonda ve başka klinik durumlarda da görülebildiğinden pozitif sonuçların mutlaka klinikle birlikte yorumlanması gerekmektedir. Sağlıklı kontrollerde düşük titre (1/40-

1/80) ANA pozitifliği genel olarak %13-15 oranında görülmekle birlikte %40-45 oranlarının saptandığı uluslararası raporlarda bulunmaktadır. Özellikle kadınlarda yaşla birlikte ANA pozitifliği artmaktadır (2, 4).

Antinükleer antikor IIF çalışmasını etkileyen önemli parametrelerden biri de tarama dilüsyonudur. Her laboratuvarın %95 persentile dayalı kendi sınır değerini belirlemesi önerilmektedir. Ancak bu uygulama her laboratuvar için geçerli olamayabileceğinden, erişkinde önerilen tarama dilüsyonunun 1:160 olmasıdır (5, 6). Bu konuda ulusal verimiz çok az bulunduğu gözlenmektedir (7).

Antinükleer antikor tarama dilüsyonu ile ilgili olarak uluslararası literatürde; 1:160 önerilmekle birlikte ülkemizde yaygın olan uygulama 1:100 dilüsyonla tarama yapılmaktadır. Ulusal verilerimizin toplanması sonucunda 1/160 dilüsyonla ANA taraması yapılması konusunda kesin bir karara varılması beklenmektedir (5, 6, 8,9,10).

Tarama dilüsyonunun 1:160 olması, 1:100 ile taramaya göre düşük pozitif ANA sonuçlarının azalmasını sağlayacak ve dolayısıyla gereksiz refleks (monospesifik) test istemleri bir ölçüde önlenecektir. Düşük pozitif (1:100) ANA pozitiflikleri, ANA pozitif sonuçların yaklaşık %70-75’ini oluşturmaktadır. Bu sonuçlar bazı klinisyenler tarafından gereksiz olarak “ANA pozitif” olarak değerlendirilmekte, refleks test istenmekte ve hasta maliyetini yükseltmektedir (5, 6). Öte yandan bazı paternlerin yakalanması dilüsyon katsayısına bağlı olarak değişebilmektedir (5).

Bu çalışmanın amacı; ANA testinin popülasyonumuz için hem ekonomik hem de tıbbi olarak en uygun tarama titresi olup olmadığını araştırmak ve rutin ANA tarama testi değerlendirilmesi için ülkemizde sık kullanılmakta olan 1:100 titresine yada güncel kılavuzlarda önerilen 1:160 titresinin tercih edilmesine karar vermektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamıza; Acıbadem hastanelerine kan bağışi yapmak amacıyla Ocak - Şubat 2015 tarihleri arasında başvuran ve hazırlanan “Onam Formunu” onaylayan 200 sağlıklı kan donörü dahil edilmiştir. Aynı zamanda aynı tarihler arasında Acıbadem hastanelerinde otoimmun hastalık tanısı yeni almış veya takipte olan ve hazırlanan “Onam Formunu” onaylayan 200 hasta daha katılmıştır. Tüm katılımcılar 18-35 yaşları arasındadır. Her iki grupta da kadın erkek oranı 5:1’dir.

Toplam 400 hastadan serum numunesi alınmış ve ANA testi çalışılmıştır. Antinükleer antikor testi çalışmasında Aesku (Almanya) ve Euroimmun (Almanya) iki farklı ticari kit kullanılmıştır. Bu iki kit ile çalışmadan önce verifikasyonları tamamlanmıştır. Verifikasyon çalışmaları iç/dış akreditasyon denetimlerinde kontrol edilmiştir. Ayrıca çalışmada kalibre edilmiş pipetler kullanılmıştır.

Mikroskopik değerlendirme ise aynı LED mikroskopu kullanılarak farklı iki kişi tarafından gerçekleştirilmiştir. Anti nükleer antikor IIF slaytlarında paternler; nükleer, sitoplazmik ve mitotik paternler olarak ayrı ayrı incelenmiş ve rapor edilmiştir. Sitoplazmik veya mitotik reaktivite olması durumunda ANA IIF test sonucu “pozitif” olarak bildirilmiştir. Aynı zamanda DFS (Dense Fine Speckled) paterni daha çok LEDGF/p75 (lens epithelium-derived growth factor p75) olarak da bilinen DFS70 antijenine karşı oluşan antikorlarda şüpheli pozitif olarak belirlenmiştir. Şüpheli pozitif DFS’likleri monospesifik doğrulama kiti ile doğrulanmamıştır.

Örnekler, 72 saatten daha uzun süre bekleyeceği için -20 C’de muhafaza edilmiş ve tekrar dondurulup çözümlene işlemi yapılmamıştır.

Her iki kit ile önce ANA testi 1:100 tarama titresinde çalışılmış ve pozitif tespit edilen örnekleri ileri seri dilüsyonlar (1:160, 1:320, 1:640, 1:1280, 1:2560 ve 1:5120) ile tekrar çalışılmıştır. Çalışmanın sonunda yine her iki kit ile önce ANA testi 1:160 tarama titresinde çalışılmış ve pozitif tespit edilen örneklerde ileri seri dilüsyonlar (1:320, 1:640, 1:1280, 1:2560

ve 1:5120) yapılmıştır. Her çalışmaya kitlerin içinde çıkan pozitif ve negatif kontroller de dahil edilmiştir. Tarama çalışmalarından sonra yapılan seri dilüsyon çalışmalarında, kit kontrollere ek olarak sonucu sertifikalandırılmış bir dış kalite kontrol numunesi de seri dilüsyonlu çalışma gerçekleştirilmiştir.

Çalışmadan elde edilen sonuçlardan testi duyarlılık ve özgünlükleri hesaplanmıştır. Testin optimum cut-off değeri, ROC analizi ile hesaplanmıştır.

BULGULAR

Antinükleer antikor Hep-2 pozitiflik sıklığı sağlıklı grupta %8 iken, hasta grupta %96 olarak bulunmuştur. Sağlıklı grupta ANA titre pozitifliğinin dağılımı; 1:100 titrede %44, 1:160’da %37, 1:320’de %13, 1:640’da %6 tespit edilmiştir.

Sağlıklı grupta 1:160 titrede ANA patern dağılımı ise yoğun ince benek (DFS70 benzeri) %56, benekli %25, nükleolar %12,5, sentromer %6,5 olarak belirlenmiştir.

Hasta grupta ANA titre pozitifliğinin dağılımı ise 1:100 titrede %0,5, 1:160 titrede %3, 1:320’de %26, 1:640’da %25, 1:1280’de %34,5, 1:2560’da %8, 1:5120’de %3 olmuştur.

Hasta grupta 1:160 titrede ANA patern dağılımında; benekli %55, homojen %24, nükleolar %11, sentromer %5, nükleer nokta %3, nükleer membran %2 olarak tespit edilmiştir.

Sağlıklı grupta en fazla ANA pozitifliği, en düşük tarama titresinde gözlenmiş ve titre artıkça görülme yüzdesi azalmakta, 1:1280 ve üstü titrelerde hiç pozitiflik tespit edilmemiştir (Tablo 1). Hasta grupta ise bunun tam tersi bir dağılım belirlenmiştir. ANA pozitifliği en fazla 1:320, 1:640 ve 1:1280 titrelerinde gözlenirken; en az 1:100 ve 1:160 titrelerinde bulunmuştur.

Çalışmamız sonucunda, sağlıklı grupta en fazla DFS70 paterni tespit edilmiş ve DFS70 paterni bir hastalıkla ilişkilendirilmemiştir (Tablo 2). Hasta grupta ise romatizmal hastalıklarla ilişkilendirilen homojen ve benekli patern sık görülmüştür.

Tablo 1. Sağlıklı ve hasta gruplarda ANA pozitif sonuçların titrelere göre dağılımı

ANA Titresi	Sağlıklı Grupta ANA Pozitiflik Yüzdesi	Hasta Grupta ANA Pozitiflik Yüzdesi
1:100	44	1
1:160	31	3
1:320	19	26
1:640	6	25
1:1280	-	34
1:2560	-	8
1:5120	-	3

Tablo 2. Sağlıklı ve hasta gruplarda ANA pozitif sonuçların paternlere göre dağılımı

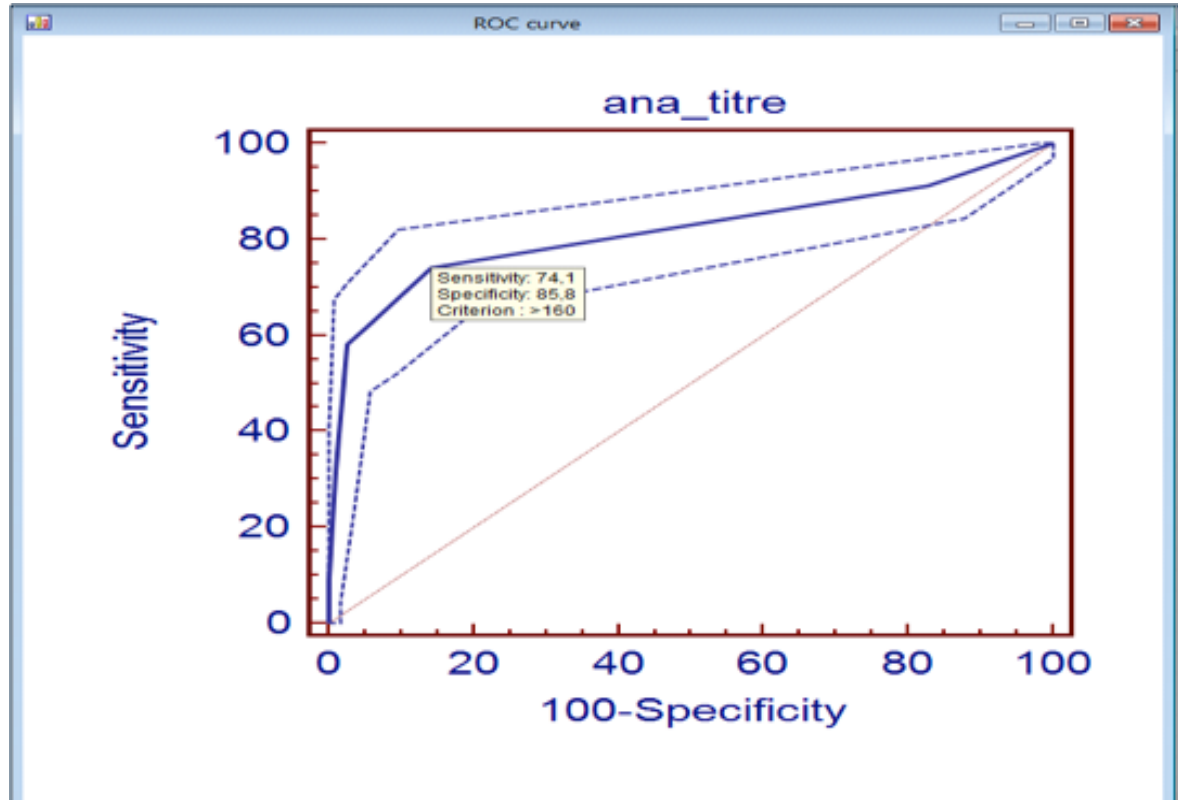
Paternler	Sağlıklı Grupta ANA Patern Dağılım Yüzdesi	Hasta Grupta ANA Patern Dağılım Yüzdesi
Yoğun ince benek (DFS70)	56	0
Benekli	25	55
Homojen	-	24
Nükleolar	12,5	11
Sentromer	6,5	5
Nükleer noktalar	-	3
Nükleer membran	-	2

1:100 tarama titresinde duyarlılık %87,2 ve özgüllük %67,7 tespit edilmişken; 1:160 tarama titresinde duyarlılık %74 ve özgüllük %85,8 olarak belirlenmiştir (Tablo 3). 1:160 titrede özgüllük

artarken, duyarlılığın azaldığı bulunmuştur. ROC curve analizi sonucunda önerilen optimum cut-off değeri 1:160 olarak tespit edilmiştir (Şekil 1).

Tablo 3. 1:100 ve 1:160 titrelerin duyarlılık ve özgüllük karşılaştırması

	1:100 Tarama Titresi	1:160 Tarama Titresi
Duyarlılık (%)	87,2	74
Özgüllük (%)	67,7	85,8



Şekil 1. ANA tarama testinin optimum tarama titresinin cut-off değeri

Mikroskop değerlendirmesi yapan iki kişi arasındaki fark; sadece iki hastada belirlenmiştir. Değerlendirme yapanlardan biri 1:100 tarama titresinde negatif olarak değerlendirirken diğeri pozitif olarak değerlendirmiştir. Biri homojen olarak değerlendirirken, diğeri ise DFS70 patern olarak raporlamıştır. Mikroskop değerlendirmesi yapan iki kişinin sonuçları uyumlu bulunmuştur (%99,5). Bu laboratuvar sonuçlarımızın devamlılığı için anlamlı bir veri olmuştur.

Sağlıklı grupta yapılan çalışmada kullanılan iki ticari kite ait sonuçlar arasında fark gözlenmezken, hasta grupta yapılan çalışmada ise iki hastada patern farklılığı bulunmuştur. Bir tane homojen benekli farklılığı ve bir tane benekli-nükleer membran farklılığı tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

HEp-2 hücreleri kullanılarak gerçekleştirilen IIF yönteminin ANA saptanmasında kullanılan en duyarlı ve altın standart olarak kabul edilen bir yöntem olduğu görülmektedir. HEp-2 hücre serisinde nükleer antijenlerin anlamlı ölçüde eksprese olması tanı duyarlılığını arttırmaktadır. Ancak bu duyarlılık artışı, özgüllükte bir azalmayı da beraberinde getirmektedir. Çok sayıda sağlıklı kişi ve diğer hastalık tanısı olan kişilerde de ANA pozitifliği saptanması üzerine ANA pozitifliği için daha yüksek bir sınır değer kullanımını gündeme getirmektedir (5, 6,9,10).

Çalışmamızda; ülkemizde ANA test için en uygun tarama titresi araştırılmış ve ROC Curve analizi ile 1:160 tarama titresinin uygun olduğu tespit edilmiştir. Böylece fazla refleks (monospesifik) test istemleri bir ölçüde önlenmiş olacaktır.

Hasta grupta %96 ANA pozitifliğinin %0,5'i sadece 1:100 titrede bulunurken, 1:160 %3 gözlenmiştir. Algoritmalara; son yıllarda hastanın klinik şikayeti olması durumunda ANA testi negatif iken refleks testlerinin istenmesi eklenmiştir. Bunun nedeni olarak HEp-2 hücre serilerinde; anti-Rib-P, anti-SS-A ve anti-Jo-1 genellikle düşük düzeyde eksprese olduğundan "yalancı negatif" sonuçlarla karşılaşılabilir (3, 5,9,10).

Çalışmamızda; sağlıklı grupta yüksek sentromer patern pozitifliği gözlenmiştir (%6,5). Çalışmamız sırasında bu grubun hiç bir klinik şikayeti olmamakla beraber, çalışma sonrası romatolojik takibe alınmıştır.

DFS70 paterni hasta grupta hiç gözlenmemişken, sağlıklı grupta en sık gözlenen patern olmuştur.

Sonuç olarak çalışmamızda; ROC Curve analizi ile 1:160 tarama titresinin uygun olduğu tespit edilmiştir. ICAP'ın önerdiği tarama titresi ülkemiz içinde uygundur ve laboratuvarlarımızda uygulanabilir. Ancak otoimmün romatizmal hastalık şüpheli bir kişi değerlendirilirken; hangi tarama titresi kullanırsa kullanılsın ANA antikorunun negatif olmasına rağmen kişinin hasta olabileceği dikkate alınmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Mahler M, Meroni PL, Bossuyt X, Fritzler MJ. Current concepts and future directions for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *J Immunol Res*, 2014; 2014: 315179. doi: 10.1155/2014/315179, 1-18.
2. Op De Beeck K, Vermeersch P, Verschueren P, Westhovens R, Mariën G, Blockmans D, et al. Detection of antinuclear antibodies by indirect immunofluorescence and by solid phase assay. *Autoimmun Rev*, 2011; 10 (12): 801-8. doi: 10.1016/j.autrev.2011.06.005.
3. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F, et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *Am J Clin Pathol*, 2002; 117 (2): 316-24.
4. Anonymous. ANA position statement. American College of Rheumatology, 08/2011.
5. Anonymous. Klinik örnekten sonuç raporuna uygulama rehberi; Otoantikörlerin Laboratuvar Tanısı rehberi. Ankara: KLİMUD, 2016.
6. Bizzaro N, Antico A, Platzgummer S, Tonutti E, Bassetti D, Pesente F, et al. Automated antinuclear immunofluorescence antibody screening: a comparative study of six computer-aided diagnostic systems. *Autoimmun Rev*, 2014; 13 (3): 292-8. doi: 10.1016/j.autrev.2013.10.015.
7. Kaklıkkaya N, Akıneden A, Topbaş M, Aydın F. Determination of anti-nuclear antibody seroprevalence in adult age groups in Trabzon Province. *Balkan Med J*, 2013; 30 (3): 343-4. doi: 10.5152/balkanmedj.2013.8125.
8. Kang I, Siperstein R, Quan T, Breitenstein ML. Utility of age, gender, ANA titer and pattern as predictors of anti-ENA and -dsDNA antibodies. *Clin Rheumatol*, 2004; 23 (6): 509-15.
9. Chan EKL, Damoiseaux J, Carballo OG, Conrad K, Cruvinel WM, Francescantonio PLC, Fritzle MJ, Torre IG, Herold M, Mimori T, Satoh M, Muhlen CA, Andrade LEC. Report of the first international consensus on standardized nomenclature of antinuclear antibody HEp-2 cell patterns 2014-2015 *Front. Immunol.*, 20 August 2015 | <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00412>
10. Chan EKL, Damoiseaux J, Carballo OG, Conrad K, Cruvinel WM, Francescantonio PLC, Fritzle MJ, Torre IG, Herold M, Mimori T, Satoh M, Muhlen CA, Andrade LEC. Report on the second International Consensus on ANA Pattern (ICAP) workshop in Dresden 2015 *Lupus* (2016) 25, 797-804

İzmir Ege Doğumevi ve Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran gebe kadınlarda HBV, HCV ve HAV seroprevalansları: 2010-2011

HBV, HCV AND HAV seroprevalence in pregnant women admitted to Izmir Aegean Obstetrics and Gynecology Training and Research Hospital: 2010-2011

Şükran KÖSE¹, Selma GÜL², Bengü TATAR¹, Muzaffer TEMUR³, Başak GÖL¹

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada; İzmir Ege Doğumevi ve Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran gebe kadınlarda hepatit B yüzey antijeni (HBsAg), hepatit B yüzey antikoru (anti-HBs), hepatit B core antikoru (anti-HBcIgG), hepatit C antikoru (anti-HCV) ve hepatit A virüs antikoru (anti-HAV IgG) seroprevalanslarının araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışma; tanımlayıcı bir çalışma olarak planlanmıştır. Bu amaçla; İzmir Ege Doğumevi ve Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gebe Polikliniği'ne 01 Aralık 2010 - 30 Eylül 2011 tarihleri arasında başvuran ve Kan Alma Merkezi'ne yönlendirilen 2003 adet gebe kadın çalışma kapsamına alınmıştır. Çalışmaya katılmayı kabul edenlerden aydınlatılmış yazılı "Onam Formu" alınmıştır. Gebe kadınlara yaş, meslek, eğitim, aşılanma durumu ve risk faktörlerini içeren anket uygulanmıştır. Gebe kadınlara anket uygulandıktan

ABSTRACT

Objective: In this study, it was aimed to investigate seroprevalence of hepatitis B surface antigen (HBsAg), hepatitis B surface antibody (anti-HBs), hepatitis B core antibody (anti-HBcIgG), hepatitis C surface antibody (anti-HCV) and hepatitis A virus antibody (anti-HAV IgG) in pregnant women admitted to Izmir Aegean Obstetrics and Gynecology Training and Research Hospital.

Methods: This study was planned as a descriptive study. 2003 pregnant women, who admitted to pregnancy clinic of Izmir Aegean Maternity and Gynaecology Training and Research Hospital and were directed to blood drawing centre between December 01, 2010 and September 30, 2011 were included in the study. A written consent form was obtained from whom accepted to participate in the study. A questionnaire which is included age, occupation, education, vaccination status and risk factors were applied to the pregnant women. After in the questionnaire, the blood samples which were taken from

¹Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi
²Batman Kadın Doğum ve Çocuk Hastanesi
³Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi



İletişim / Corresponding Author : Selma GÜL

Ziyagökalp mah. Edip Solmaz Bulvarı Merkez/Batman 72060 BATMAN - Türkiye

Tel : +90 506 457 54 55

E-posta / E-mail : selmagul75@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 26.05.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 01.08.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.39259

Köse Ş, Gül S, Tatar B, Temur M, Göl B. İzmir Ege Doğumevi ve Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran gebe kadınlarda HBV, HCV ve HAV seroprevalansları: 2010-2011. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(1): 21-28

sonra alınan kan örneklerinde HBsAg, anti-HBs, anti-HBcIgG, anti-HCV ve anti-HAV IgG antikorları ELISA yöntemi ile değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışmaya alınan 2003 gebe kadının yaş ortalaması 27±3 (18-44) olarak belirlenmiştir. Mesleki dağılım açısından %89,7'si ev hanımı, %5,4'ü işçi, %3,6'sı serbest meslek, %1,1'i memur ve %0,2'si öğrencidir. Risk faktörü olarak aile içinde hepatit taşıyıcısı olanların %3,6; sezaryen operasyonu olanların %9,4, diğer operasyon geçirenlerin %4,3 olduğu tespit edilmiştir. Gebe kadınların %4'ünde hepatit B aşısı öyküsü bulunmuştur. Gebe kadınların %1,14'ünde HBsAg pozitifliği, %17'sinde anti-HBs pozitifliği (geçirilmiş enfeksiyon/aşılama), %13,4'ünde anti-HBcIgG ile birlikte anti-HBs pozitifliği, %3,6'sında sadece anti-HBs pozitifliği, %0,7'sinde anti-HCV pozitifliği ve %88,2'sinde ise anti-HAV IgG pozitifliği belirlenmiştir.

Sonuç: Salt anti-HBs oranına (%3,6) istinaden HBsAg pozitiflik oranındaki düşüklük etkin aşılama ile bağlantılı değildir. HBsAg pozitiflik oranının düşüklüğü, çalışmamıza katılan gebelerde hepatit bulaş yolları ve korunma yolları hakkında farkındalık olduğunu düşündürmüştür. Yapılacak diğer hepatit seroprevalans çalışmalarının toplum sağlığı açısından sağlık politikalarına yardımcı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: gebelik, prevalans, hepatit B, hepatit C, hepatit A

pregnant women were evaluated in terms of HBsAg, anti-HBs, anti-HBcIgG, anti-HCV and anti-HAV IgG antibodies. Blood samples were evaluated by ELISA technique.

Results: The mean age of 2003 pregnant women participated in the study was detected as 27±3 (18-44) years. In terms of occupational distribution, 89.70% were housewives, 5.4% were workers, 3.6% were freelancers, 1.1% were officers and 0.2% were students. As risk factors, being an intrafamilial transmitted hepatitis carrier was 3.6%, having had c-section was 9.4%, having had other operations 4.3%. Four percent of pregnant women had history of hepatitis B vaccination. It was detected to HBsAg positivity in 1.14%, anti-HBs positivity in 17% (past and recovered infection or vaccination), both anti-HBcIgG and anti-HBs positivity in 13.4%, anti-HBs positivity in 3.6%, anti-HCV positivity in 0.7% and anti-HAV IgG positivity in 88.2% .

Conclusion: Based on the rate of salt anti-HBs (3.6%), the low rate of HBsAg positivity was not associated with efficient vaccination. Low HBsAg positivity suggests that pregnant women who participated in our study were aware of prevention of hepatitis and its transmission paths. It has been contemplated that other hepatitis seroprevalence studies that will be carried out will contribute health policies in terms of public health.

Key Words: pregnancy, prevalence, hepatitis B, hepatitis C, hepatitis A

GİRİŞ

Dünya üzerinde hepatit B virüsü (HBV) ile enfekte yaklaşık 350 milyon insan bulunmaktadır. HBV'ye bağlı dekompanze siroz ve hepatosellüler karsinom nedeniyle her yıl yaklaşık bir milyon insan kaybedilmektedir (1). Doğurganlık çağındaki bulunan kadınlarda HBsAg varlığı, perinatal hepatit B virüs enfeksiyonunda belirleyici faktördür. Perinatal bulaş

sonucu gelişen HBV enfeksiyonu çocukta %60-90 oranında kronikleşmektedir (2, 3). Uygun tedbirler alınarak yapılan kan ve kan ürünü kullanımı sayesinde hepatit C virüs (HCV) insidansı ülkemizde %0,5-1'lere gerilemiş olmakla birlikte hala önemli bir kronik hepatit ve hepatoma etkenidir (4). HCV ile enfekte gebelerde prenatal bulaş oranı %1-5 arasındadır (5).

Gebelerde akut hepatit A sık görülmemekle birlikte intrauter geçiş bildirilmemiştir. Gebelik sırasında geçirilen akut hepatit A virüs (HAV) enfeksiyonun maternal komplikasyonlara ve erken doğum riskine neden olduğu bildirilmiştir (6).

Bu çalışmada, İzmir Ege Doğumevi ve Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gebe Polikliniği'ne başvuran ve Kan Alma Merkezi'ne yönlendirilen gebe kadınlardan hepatit B yüzey antijeni (HBsAg), hepatit B yüzey antikoru (anti-HBs), hepatit C antikoru (anti-HCV) ve hepatit A virüs antikoru (anti-HAV IgG) sonuçları incelenerek seroprevalanslarının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma; tanımlayıcı bir çalışma olarak planlanmıştır. Bu amaçla çalışmamıza; İzmir Ege Doğumevi ve Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gebe Polikliniği'ne 01 Aralık 2010-30 Eylül 2011 tarihleri arasında başvuran ve Kan Alma Merkezi'ne yönlendirilen 2003 gebe kadın alınmıştır. Çalışma hakkında bilgi verilen gebe kadınlardan yazılı aydınlatılmış "Onam Formu" alınmıştır. Çalışmaya katılan gebe kadınlara yaş, meslek, eğitim ve risk faktörlerini içeren anket uygulanmıştır. Gebe kadınlardan alınan kan örnekleri anti-HAV IgG (macro ELISA, Liason, Diasorin, Italy), HBsAg, anti-HBs, antiHBcIgG ve anti-HCV (Architec, Abbott, Germany) ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) yöntemi ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 2003 gebe kadının yaş ortalaması 27 ± 3 (17-44) olarak belirlenmiştir. Gebe kadınların mesleki dağılımları; 1797 (%89,7)'si ev hanımı, 108 (%5,4)'ü işçi, 72 (%3,6)'sı serbest meslek, 22 (%1,1)'i, memur ve dördü (%0,2)'si öğrencidir. Risk faktörü olarak aile içinde hepatit B taşıyıcısı olanlar 72 (%3,6), sezeryan operasyonu olanlar 188 (%9,4), diğer operasyon öyküsü olanlar 86 (%4,3), manikür alışkanlığı olanlar ise üç (%0,15) olarak tespit edilmiştir.

Gebe kadınların 81 (%4)'ünde hepatit B aşılama öyküsü bulunmaktadır. Gebe kadınların hiçbirinde hepatit A aşılama öyküsü belirtilmemiştir. Çalışmaya alınan 2003 adet gebe kadından alınan kan örneklerinin tümünde HBsAg, anti-HBs, antiHBcIgG, anti-HCV ve anti-HAV IgG çalışılmıştır. HBsAg pozitifliği 23 (%1,14)'ünde, anti-HBs pozitifliği (geçirilmiş enfeksiyon/aşılama) 340 (%17)'sinde, anti-HBcIgG pozitifliği 268 (%13,4)'ünde, anti-HCV reaktifliği 14 (%0,7)'sinde ve 1767 (% 88,2)'sinde anti-HAV IgG pozitifliği belirlenmiştir (Tablo 1). Yaşlara göre ELISA sonuçlarının dağılımı incelendiğinde ise izole anti-HBs pozitifliği olan grubun %77,7'sinin 17-27 yaş arası gebe kadınlar olduğu görülmüştür (Tablo 2). İzole anti-HBs pozitifliği olan 72 (%3,6) gebe kadının aşılama öyküsü bulunmuştur.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Yüksek endemik bölgelerde; HBV'nin en önemli bulaş yolu perinatal enfeksiyonlardır. Orta endemik bölgelerde özellikle çocukluk döneminde horizontal geçiş ön plandadır. Ülkemizde HBV enfeksiyonun bulaşısı özellikle horizontal yol ile olmakla birlikte vertikal geçişin de önemli olduğu düşünülmektedir (7). Aile içinde HBsAg pozitif bireyler ile ortak kullanılan ve kesici-delici/kan ile temas edebilecek malzemelerin kullanılması veya korunmasız cinsel temas da bulaş için önemlidir.

HBsAg pozitif anneden bebeğe vertikal geçiş daha çok doğum sırasında olmaktadır. Erken membran rüptürü, plasentanın erken ayrılması, annenin vaginal sekresyonları ile doğum sırasında bebeğin direkt teması HBV'nin bulaş riskini arttırmaktadır (8-10). HBsAg pozitif annelerin temas sonrası immünoprolaksi uygulanmayan bebeklerinde kronik hepatit B (KHB) gelişmesi riski, HBeAg pozitif olanlarda %70-90 iken, HBeAg negatif olanlarda %10'dur. Doğum sırasında immunglobulin ve HBV aşısı uygulanması ile bu oran %5-10'lara gerilemiştir (11, 12). Bu nedenle gebe kadınlarda özellikle HBsAg serolojisinin bakılması, pozitif olanlarda HBV DNA değerinin belirlenerek

Tablo 1. Gebe kadınlarda HBV, HCV ve HAV seroprevalansı

Test	n (%) (Toplam sayı = 2003)
HBsAg	23 (%1,1)
Anti-HBcIgG	268 (%13,4)
Anti-HBs (Geçirilmiş enfeksiyon/Aşılama)	340 (%17,0)
Anti-HCV	14 (%0,7)
Anti-HAV IgG	1767 (%88,2)

Tablo 2. ELISA sonuçlarının yaşlara göre dağılımı

Marker	17-26 Yaş	27-36 Yaş	37-44 Yaş	Toplam
HBsAg	2 (%8,7)	17 (%73,9)	4 (%17,4)	23
Anti-HBs/anti-HBcIgG	48 (%17,91)	118 (%44,03)	102 (%38,06)	268
Salt anti-HBs	56 (%77,7)	16 (%22,3)	0 (%0)	72
Anti-HCV	7 (%50)	6 (%42,8)	1 (%7,2)	14
Anti-HAV	763 (%43,1)	942 (%53,3)	62 (%3,5)	1767

gerekli durumlarda son trimestırda antiviral tedavi başlanması amacıyla değerlendirilmesi gerekmektedir (9).

Hepatit B taşıyıcısı olan anneden doğan ve doğum sonrası yeterli/uygun immünizasyon yapılmayan bebeklerde kronikleşme oranı yüksek olduğu için yenidoğan bebeklerin HBV bulaşından korunması için aşılınmaları tüm dünyada öncelik verilen korunma yöntemidir. Genişletilmiş bağışıklama programı (EPI) kapsamında evrensel HBV aşılması 1990 yılında sadece 20 ülkeyi kapsamakta iken 2011 yılı sonu itibari ile bu sayı 180 ülkeye ulaşmıştır (13). Bu program dahilinde ülkemizde ve birçok ülkede bir yaş çocuklarda üç doz aşılama oranları %90'nın üzerindedir (14-16). Ülkemiz verileri incelendiğinde; 2005 yılı itibari ile çocukluk dönemi akut HBV bildirimlerinin oldukça azaldığı gözlemlenmektedir (17). Bu da aşılamanın HBV'den korunmada en iyi yol olduğunu göstermektedir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda; gebe kadınlarda HBsAg pozitifliği %2,10 ile %16,60 arasında değişen oranlarda bulunmuştur (18-20). Madendağ ve ark., (21) 2005-2007 yılları arasında Ankara'da 90351 gebe kadında yaptıkları seroprevalans çalışmasında; HBsAg pozitifliğini %2,11 olarak saptamışlardır. Köksaldı ve ark., (22) 2009 yılında Hatay ilinde yaptıkları çalışmada; 5410 gebe kadında HBsAg pozitifliğini %1,5 olarak belirlemişlerdir. Atılğan ve ark., (23) 2006-2008 yılları arasında Rize ili Çayeli ilçesindeki 1130 gebe kadında yaptıkları çalışmada; HBsAg pozitifliğini %2,56 olarak tespit etmişlerdir. Çiçek ve ark., (24) 2007-2009 yıllarında Şanlıurfa'daki gebelerde tespit ettikleri HBsAg pozitifliği %3,5 olarak bildirilmiştir. Araz ve ark., (25) Gaziantep'te 11.840 gebe kadının katılımı ile yaptıkları çalışmada; bu oranı %2,1 olarak bulmuşlardır. Furuncuoğlu ve ark., (26) 1995-2015 yılları arasında 7605 gebe kadının katılımı ile yaptıkları çalışmada; HBsAg pozitifliğini %1,5 olarak saptamışlardır. Zahran ve ark., (27) Mısır'da 500 gebe kadında yaptıkları çalışmada; HBsAg pozitifliğini %4 olarak göstermişlerdir. Pakistan'da 500 gebe kadını yapılan çalışmada; HBsAg pozitifliği %4,6 olarak

tespit edilmiştir (28). Afganistan'da üç doğumevi hastanesinde 4452 gebe kadında yapılan çalışmada; HBsAg pozitifliği %1,53 olarak belirlenmiştir (29). Sudan'da 728 gebe kadında yapılan çalışmada; HBsAg pozitifliği %5,6 olarak görülmüştür (30). Molla ve ark., (31); Etiyopya'da 384 gebe kadının HBsAg pozitifliği %4,4 olarak tespit edilmiştir. Tsankova ve ark., (32); 2009-2013 yılları arasında gebe kadınlarda yaptıkları hepatit B seroprevalans çalışmasında; toplam 2700 kan örneği çalışılmış ve HBsAg pozitifliği %2,26 olarak saptanmıştır. Çalışmamızın sonuçları ile yapılan bu çalışmalar karşılaştırıldığında HBsAg pozitifliğinin %1,14 ile en düşük oranda olduğu görülmüştür. Çalışmamızda; izole anti-HBsAg gebe kadın oranının %3,6 olması nedeniyle bu düşük HBsAg pozitiflik oranının tek başına aşılamaya bağlı olduğunu düşündürmemiştir. Kan ve vücut sıvıları ile bulaşan hastalıklardan korunmada, aşılama dışında özellikle kişisel eşyaların (diş fırçası, tıraş bıçağı vs.) başkaları ile paylaşılması ve cinsel temasta bariyer yöntemler kullanılması önerilmektedir. Çalışmamıza katılan gebe kadınlarda ortak kullanılan eşyalar ve cinsel temasta korunmaya yönelik yeterli sorgulama yapılamaması çalışmamızın eksikliği olarak düşünülmektedir. Çalışmamızda; aşılama oranı düşük olduğu için düşük HBsAg oranının kişilerin kan ve vücut sıvıları ile bulaşan hastalıklar ve bulaş yolları hakkında farkındalıklarının olmasına bağlı olduğunu düşündürmüştür.

Hatay'da (22) ve Şanlıurfa'da (24) Anti-HBs pozitifliği oranlarının %25 olduğu görülmüştür. Furuncuoğlu ve ark., (26) yaptığı çalışmada; bu oran %11,5 olarak saptanmıştır. Yapılan bu çalışmalarda; gebe kadınlarda belirlenmiş olan anti-HBs oranları incelendiğinde değişken oldukları görülmüştür. Tosun ve ark., (33) 760 gebede yaptıkları çalışmada; salt anti-HBs pozitifliği %3,2 ve anti HBcIgG ile birlikte anti-HBs pozitifliği (HBV bağışık) %15,4 olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda ise izole anti-HBs pozitifliği oranı %3,6, anti HBcIgG ile birlikte anti-HBs pozitifliği %13,4 olarak belirlenmiş ve Tosun ve ark. (33) çalışması ile benzer bulunmuştur. Ülkemizde

HBV aşısı, aşı takvimine 1998 yılında girmiş olup 2007-2008 yıllarında aşı kampanyası ile ilköğretim öğrencileri de aşılanmıştır. Çalışmamızda; izole anti-HBs pozitif gebe kadınların yaşları dikkate alındığında bu aşı programlarının doğurganlık dönemindeki kadınların korunmasında kısmen etkisi olabileceğini düşündürmüştür.

Günümüzde, HCV enfeksiyonu için geliştirilmiş bir aşı veya gebelikte uygulanabilecek uygun bir tedavi yoktur (34, 35). HCV'nin vertikal geçişi %5'in altında olmakla birlikte gebelerdeki anti-HCV reaktivite oranları ile ilgili çeşitli çalışmalarda; %0,44 ile %2,04 arasında saptanmıştır. Anti-HCV reaktivite oranları ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda; %0,17 ile %2,04 arasındaki oranlarda tespit edilmiştir (18,19, 21-24, 36). Diğer ülkelerde yapılan çalışmalar sonucunda; anti-HCV reaktivite oranı Mısır'da %6,4 (27), Pakistan'da %7 (28), Afganistan'da %0,31 (29), Sudan'da %0,6 (30), Etiyopya'da %0,26 (31) olarak saptanmıştır. Ülkemiz dışındaki bazı az gelişmiş ülkelerde anti-HCV oranlarının oldukça yüksek olduğu görülmekle birlikte çalışmamızdaki oran (%0,70) ülkemizdeki diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

Ülkemizde, hepatit A enfeksiyonu genellikle çocukluk döneminde asemptomatik olarak geçirilmektedir. Yaş ilerledikçe anti-HAV IgG pozitifliği artmaktadır. Çetinkol ve ark., (37) 2011 yılında Ünye'de yaptıkları çalışmada; hastaneye başvuran genel hasta popülasyonunda anti-HAV IgG pozitifliğini 21-30 yaş arasında %74,4, 31-40 yaş arasında %93,7,

41-50 yaş arasında %96,3 olarak bildirmiştir. Arabacı ve ark., (38) Çanakkale'de yaptıkları çalışmada; anti-HAV IgG pozitifliğini 22-26 yaş arasında %70,5, 27-31 yaş arasında %86,8, 32-36 yaş arasında %92,7, 37-41 yaş arası %91,5, 42-46 yaş arası %98,2 olarak belirtmişlerdir. Bu çalışmada; kadınlarda genel olarak anti-HAV pozitifliği %77,37 olarak tespit edilmiştir (38). Tosun ve ark., (33) infertilite nedeniyle takip ettikleri kadınlarda yaptıkları çalışmada; anti-HAV IgG pozitifliği %92,5 olduğunu bulmuşlardır. Görüldüğü üzere gebe kadınlarda yapılmış herhangi bir HAV seroprevalans çalışması yoktur. Bu nedenle genel kadın popülasyonu ile yapılmış çalışmalarla çalışmamız karşılaştırılmıştır. Çalışmamızda; anti-HAV IgG pozitifliği sonucu olan %88,2 oranı bu çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Ülkemizde hepatit A seroprevalansı yüksek olduğu ve hepatit A bulaş yolu fekal-oral yol ile olduğu için gebelerde rutin bakılması önerilmemektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda; HBsAg pozitifliği oranı dışında bakılan diğer parametrelerle yapılan başka çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. İzole anti-HBsAg oranına (%3,6) istinaden HBsAg pozitiflik oranındaki düşüklük etkin aşılamaya bağlanmamıştır. HBsAg pozitifliği düşüklüğü çalışmaya başvuran gebelerde hepatit bulaş yolları ve korunma yöntemleri hakkında farkındalık olduğunu düşündürmüştür. Yapılacak diğer hepatit seroprevalans çalışmalarının toplum sağlığı açısından sağlık politikalarına yardımcı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. *J Viral Hepat*, 2004; 11: 97-107.
2. Kumar A. Hepatitis B virus infection and pregnancy: a practical approach. *Indian J Gastroenterol*, 2012; 31: 43-54.
3. Jonas MM. Hepatitis B and pregnancy: an underestimated issue. *Liver Int*, 2009; 29: 133-9.
4. Örmeci N. Hepatit C virüsü. In: Tabak F, Tosun S, eds. *Viral Hepatit*. 1. Baskı. İstanbul: Medikal Yayıncılık, 2013: 317.
5. Akhan SÇ. Gebelik ve Kronik Hepatitler. In: Tabak F, Balık İ, eds. *Viral Hepatit*. 1. Baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık, 2009: 190-1.
6. Elinav E, Ben-Dov IZ, Shapira Y, Daudi N, Adler R, Shouval D, et al. Acute hepatitis A infection in pregnancy is associated with high rates of gestational complications and preterm labor. *Gastroenterology*, 2006; 130:1129-34.
7. Günal Ö, Barut HŞ, Erkorkmaz Ü, Göral A. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Hastanesi'ne başvuran HBsAg pozitif hastalarda risk faktörlerinin analizi. *Viral Hepatit Derg*, 2008; 13: 111-14.
8. Pan CQ, Duan ZP, Bhamidimarri KR, Zou HB, Liang XF, Li J, et al. An algorithm for risk assessment and intervention of mother to child transmission of hepatitis B virus. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2012; 10: 452-9.
9. Tran TT. Hepatitis B and pregnancy. *Curr Hepat Rep*, 2009; 8: 91-5.
10. Petrova M, Kamburov V. Breastfeeding and chronic HBV infection: clinical and social implications. *World J Gastroenterol*, 2010; 16: 5042-6.
11. Borgia G, Carleo MA, Gaeta GB, Gentile I. Hepatitis B in pregnancy. *World J Gastroenterol*, 2012; 18: 4677-83.
12. Giles ML, Visvanathan K, Lewin SR, Sasadeusz J. Chronic hepatitis B infection and pregnancy. *Obstet Gynecol Surv*, 2012; 67: 37-44.
13. Franco E, Bagnato B, Marino MG, Meleleo C, Serino L, Zaratti L. Hepatitis B: Epidemiology and prevention in developing countries. *World J Hepatol*, 2012; 4: 74-80.
14. Başaran BB, Güler C, Eryılmaz Z, Yentür GK, Pulgat E. TC Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2011. Sağlık Araştırmaları Genel Müdürlüğü, Yayın No: 8852011. Ankara, 2012.
15. Nguyen TD, Dang AD, Van Damme P, Nguyen CV, Duong HT, Goossens H, et al. Coverage of the expanded program on immunization in Vietnam: Results from 2 cluster surveys and routine reports. *Hum Vaccin Immunother*, 2015; 11: 1526-33.
16. Langiano E, Lanni L, Ferrara M, Atrei P, Martellucci G, De Vito E. Preventable infectious diseases using vaccination in developmental age in the province of Frosinone, Italy. *J Prev Med Hyg*, 2007; 48: 97-102.
17. Tosun S. Viral hepatitlerin ülkemizde ki değişen epidemiyolojisi. *ANKEM*, 2013; 27: 128-34.
18. Gül A, Türkoğan MK, Zeteroğlu Ş. Bir grup gebede hepatit B ve hepatit C prevalansı. *Perinatol Derg*, 1998; 6: 67-9.
19. Kölgeliler S, Güler D, Demiraslan H. Adıyaman'da gebe kadınlarda HBsAg ve anti-HCV sıklığı. *Dicle Tıp Derg*, 2009; 36: 191-4.
20. Yegane Tosun S, Erensoy S, Özacar T, Yücebilgin S, Altınay B. Gebelerin ve bebeklerin hepatit virus infeksiyonları yönünden araştırılması ve izlenmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2003; 33: 153-9.
21. Madendağ Y, Çöl Madendağ D, Çelen Ş, Ünlü S, Danşman N. Hastanemize başvuran tüm obstetrik ve jinekolojik hastalarda hepatit B, hepatit C ve HIV seroprevalansı. *Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst*, 2007; 17: 442-6.
22. Köksaldı MV, Evirgen Ö, Aksakal M, İnci M, Önen Y, Ocağ S. Hatay Doğum ve Çocuk Bakımevi Hastanesi'ne başvuran kadınlarda hepatit B ve hepatit C seropozitifliği. *Viral Hepatit Derg*, 2010; 16: 53-6.

23. Atılğan R, Kavak SB, Çelik A. Gebelerde hepatit B ve hepatit C seropozitiflik oranları. Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst, 2009; 19: 34-7.
24. Çiçek AÇ, İnakçı İH, Duygu F. Şanlıurfa ilinde kadın hastalıkları ve doğum hastanesine başvuran kadınlarda hepatit B ve hepatit C seroprevalansı: Üç-yıllık değerlendirme. Viral Hepatit Derg, 2012; 18: 15-8.
25. Araz NC, Dikensoy E. Seoprevalence of hepatitis B among pregnant women in southern Turkey. J Pak Med Assoc, 2011; 61: 176-7.
26. Furuncuoğlu Y, Bolukbas FF, Bolukbas C, Torun P, Ozturk R. Changes in prevalence of HBV infection in pregnant women in Turkey between 1995 and 2015: A 20-year evaluation. Postgrad Med J, 2016. doi: 10.1136/postgradmedj-2015-133876.
27. Zahran KM, Badary MS, Aqban MN, Abdel Aziz NH. Pattern of hepatitis virus infection among pregnant women and their newborns at the Women's Health Center of Assiut University, Upper Egypt. Int J Gynaecol Obstet, 2010; 111: 171-4.
28. Taseer IU, Ishaq F, Hussain L, Safdar S, Mirbahar AM, Faiz SA. Frequency of anti-HCV, HBsAg and related risk factors in pregnant women at Nishtar Hospital, Multan. J Ayub Med Coll Abbottabad, 2010; 22: 13-6.
29. Todd CS, Ahmadzai M, Atiqzai F, Miller S, Smith JM, Ghazanfar SA, et. al. Seroprevalence and correlates of HIV, syphilis, and hepatitis B and C virus among intrapartum patients in Kabul, Afghanistan. BMC Infect Dis, 2008; 8: 119.
30. Elsheikh RM, Daak AA, Elsheikh MA, Karsany MS, Adam I. Hepatitis B virus and hepatitis C virus in pregnant Sudanese women. Virol J, 2007; 13: 104.
31. Molla S, Munshea A, Nibret E. Seroprevalence of hepatitis B surface antigen and anti HCV antibody and its associated risk factors among pregnant women attending maternity ward of Felege Hiwot Referral Hospital, northwest Ethiopia: a cross-sectional study. Virol J, 2015; 12: 204.
32. Tsankova GS, Kostadinova T, Todorova TT. Seoprevalence of hepatitis B among pregnant women in Varna Region, Bulgaria. J Med Virol, 2016. doi: 10.1002/jmv.24543.
33. Tosun YS, Özacar T, Zeytinoğlu A, Tavmergen E, Bilgiç A. İnfertilite olgularında hepatit A, hepatit B ve hepatit C seroprevalansı. MN Klinik Bilimler & Doktor, 2003; 9: 215-9.
34. Arshad M, El-Kamary SS, Jhaveri R. Hepatitis C virus infection during pregnancy and the new born period are they opportunities for treatment? J Viral Hepat, 2011; 18: 229-36.
35. Pembrey L, Newell ML, Tovo PA, EPHN Collaborators. The management of HCV infected pregnant women and their children European paediatric HCV network. J Hepatol, 2005; 43: 515-25.
36. Çakmak B, Karataş A. Kocaeli bölgesinde yaşayan gebe kadınlarda hepatit B ve C seropozitiflik oranları. Selçuk Tıp Derg, 2012; 28: 80-2.
37. Çetinkol Y, Altunçekiç YA. Ünye Hastanesine başvuran hastalarda hepatit A seroprevalansı. Kocatepe Tıp Derg, 2011; 12: 18-22.
38. Arabacı F, Oldacay M. Çanakkale yöresinde çeşitli yaş gruplarında hepatit A seroprevalansı ve akut hepatitli olgularda hepatit A sıklığı. Çocuk Enf Derg, 2009; 3: 58-61.

Reability investigations of bacteriological aspects of play dough

Oyun hamurlarının bakteriyolojik açıdan güvenilirliğinin araştırılması

Görkem DÜLGER¹, Emel ÇALIŞKAN², Nida KILIÇ², Handan ANKARALI³

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to microbiologically evaluate the play doughs sold in stationery shops in Düzce province and frequently used in preschool education institutions.

Methods: 50 samples from five different containers that belong to ten different companies were included in the study. Each of the containers was evaluated six times as pre-play, first day post-play, first week post-play, second week post-play, third week post-play and fourth week post-play in terms of bacteriological reproduction. One gram of each play dough sample was added to the Brain Heart Infusion Broth (BH) (Oxoid) medium and incubated at 37 ° C for 24 hours. Blood Agar and Eosin Methylene Blue Agar (Becton Dickinson, USA) were inoculated from BH and incubated at 37 ° C for 18-24 hours. Firstly, Gram stain was used in the identification of the bacteria in the samples after the incubation. Afterwards, the conventional methods such as catalase test, glucose test, nitrat test, voges proskauer test and Phoenix 100 BD automatize system (Becton Dickinson Diagnostic Systems, Sparks) were used. Z-test was used to determine the growth in pre-play and post-play period statistically for differences between two dependent proportions.

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada; Düzce ilinde bulunan kırtasiyecilerde ve okul öncesi eğitim veren kurumlarda sıklıkla kullanılan oyun hamurlarının mikrobiyolojik açıdan değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: On farklı firmaya ait beş farklı kutudan toplam 50 örnek çalışmaya dahil edilmiştir. Kutuların her biri bakteriyolojik üreme açısından, oyun öncesi, oyun sonrasındaki birinci gün, birinci hafta, ikinci hafta, üçüncü hafta ve dördüncü haftada olmak üzere altışar kez incelenmiştir. Oyun hamuru örneklerinin her birinden birer gram Brain Heart Infusion Broth (BH) (Oxoid) besiyerine eklenmiş ve 37 °C'de 24 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. BH'de gelişen kolonilerden Kanlı Agar ve Eosin Methylene Blue Agar (Becton Dickinson, USA) besiyerlerine ekim yapılarak 18-24 saat 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası üremenin gerçekleştiği örneklerdeki bakterilerin tiplendirilmesinde ilk önce Gram boyama, ardından katalaz testi, glikoz testi, nitrat testi, Voges Proskauer testi gibi konvansiyonel yöntemler ile Phoenix 100 BD otomatize sistem (Becton Dickinson Diagnostic Systems, Sparks) kullanılmıştır. Oyun öncesi ve sonrası dönemlerdeki üremelerin istatistiksel olarak belirlenmesinde iki bağımlı oran arasındaki farka ait Z-testi kullanılmıştır.

¹Duzce University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Duzce, Turkey

²Duzce University, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Duzce, Turkey

³Duzce University, Faculty of Medicine, Department of Biostatistics, Duzce, Turkey



İletişim / Corresponding Author : Emel ÇALIŞKAN

Duzce University Faculty of Medicine Department of Medical Microbiology, Duzce - Turkey

Tel : +90 535 264 01 14 E-posta / E-mail : emelcaliskan81@yahoo.com.tr

Geliş Tarihi / Received : 02.05.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 01.08.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.34603

Dülger G, Çalışkan E, Kılıç N, Ankaralı H. Reability investigations of bacteriological aspects of play dough. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(1): 29-36

Results: The analysis showed that while no growth was observed in any culture of two companies (20%) out of 10, there was a growth in all cultures of the two products. As a result of the analysis, it was determined that all observed bacteria were *Bacillus licheniformis* and *Bacillus cereus* that belong to *Bacillus* genus. It was found that 51 (33%) of all *Bacillus* were *B. Licheniformis*, and 104 (67%) of them were *B. cereus*. As a result of the post-play culture study, it was observed that bacterial uremia decreased in play dough although it was not statistically significant until the fourth week from one day.

Conclusion: Pathogens can cause health problems such as food poisoning and eye infections. Moreover, preschool children on the market have the ability to move the hand muscles to the dangerous dimensions of having the edible label on most of the play dough that are used for educational purposes and often in educational institutions. Besides, according to the literature review, it is emphasized for the first time in this study that the bacteriological safety is an important issue for children's health in our country.

Key Words: *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, play dough

Bulgular: Yapılan incelemede on firmadan ikisinin (%20) hiçbir kültüründe üreme olmadığı tespit edilirken iki firmanın çalışmaya dahil edilen tüm kültürlerinde üreme olduğu bulunmuştur. Doğrulama sonucunda üreyen tüm bakterilerin *Bacillus* cinsine ait olduğu görülmüştür. *Bacillus*'ların 51 (%33)'inin *Bacillus licheniformis*, 104 (%67)'ünün *Bacillus cereus* olduğu belirlenmiştir. Oyun sonrası yapılan kültür çalışması sonucunda ise birinci günden itibaren dördüncü haftaya kadar istatistiksel olarak anlamlı olmasa da oyun hamurlarında bakteriyel üremenin bir miktar azaldığı görülmüştür.

Sonuç: Üreyen bakterilerin başta gıda zehirlenmesi ve göz enfeksiyonları olmak üzere ciddi sağlık problemlerine sebebiyet verdiği ve piyasada bulunan, okul öncesi çocukların el kaslarının gelişmesi amacı ile sıklıkla eğitim veren kurumlarda kullanılan oyun hamurlarının çoğunun üzerinde de yenilebilir ibaresinin bulunması, durumu daha da tehlikeli boyutlara taşıyabilmektedir. Ayrıca, yapılan literatür taramasına göre, ülkemizde çocuk sağlığı için önemli bir konu olan oyun hamurlarının bakteriyolojik açıdan güvenilirliği ilk kez bu çalışmada vurgulanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, oyun hamuru

INTRODUCTION

Endospore forming bacteria can be mesophilic, aerobic and are often available in raw vegetables in high quantity. They cause spoilage and toxicity problems. (1). The bacteria belonging to *Bacillus* genus are generally soil borne. The sizes of *Bacillus* bacteria can range from (0.5 µm-1.2 µm) to (2.5 µm-10 µm). *Bacillus* species are aerobe and facultative anaerobe, Gram positive, mobile and do not contain spores (2). *Bacillus megaterium* in particular, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus* and

Bacillus cereus can cause certain problems called as "ropiness" by developing in products especially made of wheat due to the spores being resistant to heat (3). Ropiness which occurs in especially breads during summer months is an important problem caused by some sporophyte bacteria. *B. subtilis* spores are found in flour and barely in yeast which is used for baking bread (4). The flours produced from wheat whose sterilization are not paid attention have a high possibility to contaminate with *Bacillus* bacteria. Besides, it is

possible that spores can settle on bread because of added substances such as yeast and flour used for baking bread, lack of water and insufficient hygienic conditions (5).

As a result of the studies done by the scientist recently, it is stated that *Bacillus* species have caused serious spoilage in food (2). It is also stated that dairy products especially contaminated with psychrotroph serotypes of *B. cereus* are risky for public health, and that psychrotroph serotypes form toxin by multiplying during the process of preserving dairy products in cold (4). Preservatives such as calcium propionate, acetic acid, propionate acid are used with the purpose of inhibition of *Bacillus* bacteria in food, especially flour products (3).

It is reported that many *Bacillus* species have caused severe infection in eyes due to its contamination with dust and soil. It is stated that *B. licheniformis*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. brevis* and *B. sphaericus* (6). There are enzymes such as necrotising exotoxin, emetic toxin, hemolysin, lecithinase and protease among pathogenicity factors of *B. cereus*. The most common contagious diseases which the bacteria cause is food poisoning existing in two different types as “emetic” and “diarrheal”. Moreover, eye infections such as posttraumatic endophthalmitis, keratitis, panophthalminia; burn, wound and skin infections; meningitis and lower respiratory tract infections can cause endocarditis, bacteraemia and sepsis (6). It was also reported in the studies previous that fever caused by the septicaemia of *B. licheniformis* - a kind of pathogen- or toxins are responsible of sepsis with trembling, peritonitis, corneal ulcer and eye infections (3).

In this study, it was aimed to determine the bacteriological quality level of play dough which have “antimicrobial” label on their wrappings in bookstores.

MATERIAL and METHOD

Gathering Play Dough Samples

Play dough samples were taken from ten different companies which were sold in some bookstores in Düzce province. In order to determine play dough's microbiological quality play dough were brought into the laboratuvar under the proper conditions such as paying attention not to make their package open. The play dough were kept at room temperature.

Searching Bacteria in Play Dough

In total 50 samples from five different containers of ten different companies were included in the study. Each of the containers was evaluated in six times as pre-play, first day post-play, first week post-play, second week post-play, third week post-play and fourth week post-play in terms of bacteriological growth. Containers are opened for the first time in a biological safety cabinet for pre-play review. The pieces taken from play dough via sterilized swabs were added to 10 mL Brain Heart Infusion Broth (Oxoid) and were preserved at 37°C for 24 hours. Later, the incubation was applied at 37°C for 18-24 hours by inoculating into Blood Agar from Brain Heart Infusion Broth and EMB Agar (Becton Dickenson, USA).

Firstly Gram staining, later conventional methods such as catalase test, glucose test, nitrat test, Voges Proskauer test were implemented in the process of identifying the bacteria in the samples the growth was monitored. Finally, the identification was carried out Phoenix 100 BD automatize system (Becton Dickinson Diagnostic Systems, Sparks).

Statistical Analysis

The descriptive values which belong to the acquired datum was stated as number and % frequency in the table. Z-testi (also referred to as McNemar test) which belongs to the difference among two dependent samples' rate was used for observing the differences in terms of the frequency of biogenic species during the days when the

measurement was done and the frequency of growth in total. Microstat (DOS version) program was used for statistical analysis and mistake possibility was accepted as 5%. Hypothesis were checked double-sided. P value less than 0.05 was considered significant.

RESULTS

No growth was detected in any culture of the two (20%) of ten companies which were tested in the study. However, in all samples of two products *Bacillus* spp. growth was detected. Another type of bacteria did not appear. Of all culture prepared in pre-play period, *B. cereus* was detected in 18 (36%), *B. licheniformis* was detected in 9 (18%). It was found that 51 (33%) of all growing *Bacillus* genus was *B. licheniformis* and 104 (67%) of them was *B. cereus* (Figure 1). The distribution of the detected bacteria was showed in Table 1 according to the incubation period. Besides, it was observed that *Bacillus* species formed colonies by using play dough like its broth in 24 hours when the play dough, whose package had been opened for the first time, from which samples had been acquired, in which *Bacillus* species growth in their incubation were kept at suitable temperature

and aerobe conditions (Figure 2). Growth was observed again in the samples after play. In the observation done, that *B. cereus* in 19 (38%) samples and *B. licheniformis* in 9 (18%) samples at the end of the first day, *B. cereus* in 19 (38%) samples and *B. licheniformis* in 9 (18%) samples at the end of the first week, *B. cereus* in 18 (36%) and *B. licheniformis* in 9 (18%) samples at the end of the second week, *B. cereus* in 15 (30%) samples and *B. licheniformis* in 8 (16%) samples at the end of the third week, *B. cereus* in 15 (30%) samples and *B. licheniformis* in 7 (14%) samples at the end of the fourth week were determined. In both species it was observed that there was a decrease in prevalence depending on time; however, in consequence of statistical evaluations it was found out that a significant difference did not occur between the first day after play when the most variation had happened and the third or fourth week after play when considered of the total growth frequency in both species (the variation: $p=0.4906$ for *B. cereus*, and $p=0.6120$ for *B. licheniformis*). P values in the other comparisons were found higher. This result shows that it is not a variation in the level which can be called statistically as “meaningful” while there is a noticeable decrease in growth.

Table 1. Distribution of number of samples bacteria growth dependent on the time

Bacteria	P.P.	A.P. 1. day	A.P. 1. week	A.P. 2. week	A.P. 3. week	A.P. 4. week
<i>Bacillus cereus</i>	18 (36%)	19 (38%)	19 (38%)	18 (36%)	15 (30%)	15 (30%)
<i>Bacillus licheniformis</i>	9 (18%)	9 (18%)	9 (18%)	9 (18%)	8 (16%)	7 (14%)
Frequency of Total Growth	27 (54%)	28 (56%)	28 (56%)	27 (54%)	23 (46%)	22 (44%)
Total Sample Frequency without Growth	23 (46%)	22 (44%)	22 (44%)	23 (46%)	27 (54%)	28 (56%)
Total Sample Number	50	50	50	50	50	50

P.P: Pre play

A.P: After play

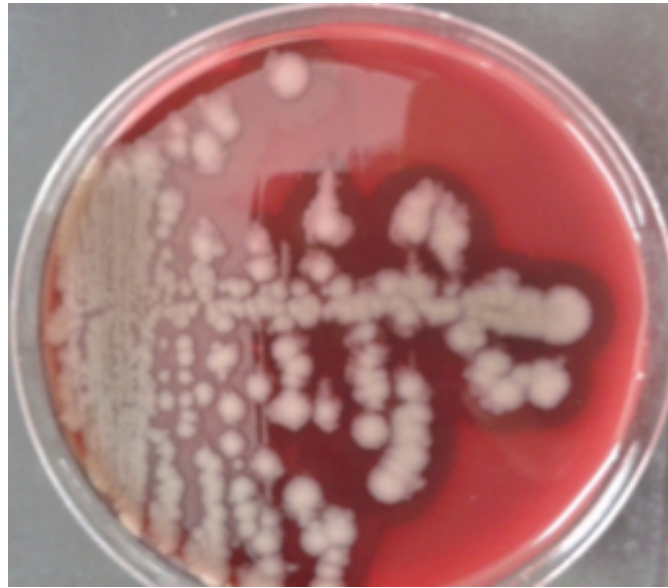


Figure 1. *B. cereus* colonies isolated from play dough on blood agar



Figure 2. *B. cereus* colonies isolated from play dough at ambient temperature

DISCUSSION

Bacillus species, which is soil borne and has spores resistant to heat and hard conditions, can keep their growing in many food products - particularly whose raw material is flour. In this study it was observed that *Bacillus* species could growth even in the minimal food media easily in play dough whose basic gradient is wheat gluten. In the samples of before-play and after-play periods no difference was found statistically with regard to bacteria growth, and it was observed that bacteria growth started to decrease since the after-play third week. It was thought that the growth rate would decrease over time depending on bacteria's devouring food source.

Since the past years food poisonings which occurs through *Bacillus* spp. endospore in cereal-based food products have often been seen (7). *Bacillus* species lead to contamination in especially raw or unprocessed food products (8). It was stated that *B. licheniformis* caused bread ropiness and foodborne diseases (9). It was also stated that pathogenic *B. cereus* which often cause human-being to get infection lead to food emetic poisoning and (toxico-infection) infections like diarrhoea (8). Toxico infections derive from Hbl toxin which is created in intestine by microorganism, Nhe toxin and Sitotoxin K action (8, 10). In another study, it was reported that *B. cereus*, *B. subtilis* and *B. licheniformis* lead to endophthalmitis which occurs

due to the invasion of intraocular tissue (11). This situation emphasizes that if hygiene conditions are not paid enough attention eye infections are likely to occur as a result of the frequent-contact of pre-school children who we talked about in our study with play dough. Likewise, if a bacterial growth in play dough is in question, it must not be ignored that certain infections can develop because of the fact that a child may swallow play dough or put his/her hand in his/her mouth. According to the literature reviews, in this study it was the first time to emphasize that *B. cereus* and *B. licheniformis* which both belong to *Bacillus* genus growth in play dough.

The detection of *B. cereus* species which especially causes food poisoning in play dough makes us think that it can cause infection in case children swallow play dough or put their hands in their mouth. *B. licheniformis* which is another detected species can be risky for children health because it can cause lots of diseases such as conjunctivitis. As a consequence, it was found out that some of the play dough is not bacteriological safe that companies should pay ultimate attention to prevent bacterial contamination, that antimicrobial material used during production period should be reformulated, and it is considered that supervisions about this situation should be increased.

REFERENCES

1. Viedma PM, Abriouel H, Omar NB, Lopez RL, Galvez A. Inhibition of spoilage and toxigenic *Bacillus* species in dough from wheat flour by the cyclic peptide enterocin AS-48. *Food Control*, 2011; 22 (5): 756-61.
2. Willke TA, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2008; 399-424.
3. Var I, Zorlugenç B, Kabak B, Uzunlu S. Un, ekmek ve yaş pastalarda rop hastalığına neden olan *Bacillus* sporlarının incelenmesi. *Dünya Gıda*, 2012; 2: 74-8.
4. Arslan S, Erginkaya Z, Özaskan M, Kılıç Hİ, Ünal E. Lacto*Bacillus* rhamnosus 'un sünme (rope) hastalığı etkeni olan *Bacillus* cinsi bakteriler üzerine inhibitör etkisinin unlarda araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2013; 43 (4): 155-64.
5. Certel M, Erem F, Karakaş B. Farklı depolama koşullarında normal ve kepekli ekmeklerin mikrobiyolojik özellikleri, su aktivitesi ve sünme durumunun değişimi. *Gıda*, 2009; 34 (6): 351-8.
6. Mengeloğlu ZF, Terzi HA, Bilici M. Kateter kaynaklı *Bacillus cereus* bakteriyemisi olgusu ve izolatlar arasındaki klonal ilişkinin PFGE ile araştırılması. *Dicle Tıp Derg*, 2011; 38 (3): 358-60.
7. Granum PE. *Bacillus cereus*. In: Doyle MP, Beuchat LR, eds. *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*. 3rd edn. Washington. ASM Press, 2007. pp: 445-55.
8. Pluata AB, Pluata A, Garbowska M. The effect of selected factors on the survival of *Bacillus cereus* in the human gastrointestinal tract. *Microb Pathog*, 2015; 82: 7-14.
9. Kramer JM, Gilbert RJ. *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species. In: Doyle MP, ed. *Foodborne bacterial pathogens*. New York. Marcel Dekker, 1989: 22-70.
10. Beecher DJ, Olsen TW, Somers EB, Wong AC. Evidence for contribution of tripartite hemolysin BL, phosphatidylcholine-preferring phospholipase C and collagenase to virulence of *Bacillus cereus* endophthalmitis. *Infect Immun*, 2000; 68(9): 5269-76.
11. Bhagat N, Nagori S, Zarbin M. Post-traumatic infectious endophthalmitis. *Surv Ophthalmol*, 2011; 56 (3): 214-51.

Üniversite öğrencileri ve ailelerinde bitkisel ürün kullanım sıklığının ve bitkisel ürün kullanımını etkileyen faktörlerin belirlenmesi

Determining the frequency use of herbal products and factors affecting the use herbal products among university students and their families

Gülşah KANER¹, Canan KARAALP², Nilgün SEREMET-KÜRKLÜ³

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada; üniversite öğrencileri ve ailelerinde bitkisel ürün kullanımının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Üniversite öğrencileri ve ailelerinde bitkisel ürün kullanımının belirlenmesi amacıyla tanımlayıcı araştırmamız 855 katılımcı ile gerçekleştirilmiştir. Kişilere yüz yüze görüşme yöntemiyle anket uygulanmıştır.

Bulgular: Katılımcıların yarısından fazlası kadın ve bekârdır. Erkeklerin yarısından fazlası üniversite mezunudur. Erkek ve kadınların yaş ortalamaları sırasıyla 35,2±10,52 ve 30,7±11,8'dir. Kadınlar erkeklere göre daha fazla bitkisel ürün kullanmaktadır. Zayıflama amacıyla bitkisel ürün kullanımı kadınlarda (%30,6), erkeklere göre (%15,1) daha fazladır. Erkeklerin yarısından fazlası (%57,6) soğuk algınlığı durumunda bitkisel ürün kullanmaktadır. Kadınlarda bitkisel ürünün çay ve tablet formunda kullanımı (%76,0 ve %9,5) erkeklere göre (%36,6 ve %4,0) fazladır (p<0,05). Katılımcıların çoğunluğu (erkek: %75,8; kadın: %86,6) bitkisel ürünleri aktardan almaktadır. Bireylerin yarısından fazlası (erkek: %51,5; kadın: %56,0) kullanılan yöntem ile bilgiyi komşu ve akrabadan aldığını ve yaklaşık

ABSTRACT

Objective: The supplementary study which aims to determine the use of herbal products among university students and their families.

Methods: This study has been conducted with 855 participants. The questionnaire form has been applied to individuals through face-to-face meeting.

Results: More than a half of the participants are female and single. More than a half of the males are university graduates. The average ages of males' and females' are 35.2±10.52 and 30.7±11.8 years respectively. Females use more herbal products than males do. Females' use of herbal products on the purpose of weight-loss (30.6%) is more than that of the males (15.1%). More than a half of the males (57.6%) prefer herbal products in the case of common cold. Females' use of herbal products in the forms of tea and tablets (76.0% and 9.5%) is more than that of males (4.0% and 36.6%). Most of the participants (male: 75.8% female: 86.6%) buy such products from herbalists. More than a half of them (male: 51.5% female: 56.0%) state that they get the necessary information and usage method from their neighbours and relatives whereas

¹İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

³Akdeniz Üniversitesi, Antalya Sağlık Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Antalya, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Gülşah KANER

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü 35620
İZMİR - Türkiye Tel : +90 506 116 42 76 E-posta / E-mail : kanergulsah@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 28.05.2016
Kabul Tarihi / Accepted : 16.10.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.21347

Kaner G, Karaalp C, Seremet-Kürklü N. Üniversite öğrencileri ve ailelerinde bitkisel ürün kullanım sıklığının ve bitkisel ürün kullanımını etkileyen faktörlerin belirlenmesi. Türk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(1): 37-54

üçte biri (erkek: %39,4; kadın: %26,7) araştırma yapmadan ürünü kullandığını belirtmiştir. Erkeklerin %19,2'sinin, kadınların %24,5'inin haftada iki-üç kez bitkisel ürün kullandığı ve kadınların %49,4'ünde bu ürünlerin kullanım süresinin bir yıldan fazla olduğu belirlenmiştir. Katılımcıların büyük çoğunluğu (%74,0), kullandığı bitkisel ürünü doktoruyla paylaşmamaktadır. Sorgulanan 95 bitki içinde kuru bitki olarak en çok kullanılan ilk beş bitki sırasıyla; karabiber (%37,1), tarçın (%30,1), çörek otu (%28,4), kırmızı biber (%24,5) ve kekik (%23,8)'tir. Taze bitki olarak en çok havuç (%34,0), zeytin (%33,2), nar (%32,0), maydanoz (%27,9) ve ceviz (%24,0); bitki çayı olarak ise yeşil çay (%34,5), ıhlamur (%32,5), kuşburnu (%29,2), oğul otu (%21,2) ve rezene (%19,0) tercih edilmektedir.

Sonuç: Yapılan araştırma sonucunda, bitkisel ürün kullanımının katılımcılar arasında yüksek olduğu, ancak bireylerin çoğunluğunun bitkisel ürünleri aktardan aldığı ve kullandıkları ürünleri doktoru ile paylaşmadıkları belirlenmiştir. Bu durum, tüm sağlık profesyonelleri tarafından ciddiye alınmalı ve gerekli bilgilendirme yapılarak, hastaların sağlığının zarar görmesi engellenmelidir.

Anahtar Kelimeler: bitkisel ürün, kuru bitki, taze bitki, bitki çayı

one third of them (male: 39.4%, female: 26.7%) indicate that they use the products without doing any research beforehand. It has been detected that 19.2% of the males and 24.5% of the females use herbal products twice or three times a week and that 49.4% of the females use such products more than a year. A great majority of the participants do not mention their products to their doctors. Top five dry herbs used in 95 products analyzed are black pepper (37.1%), cinnamon (30.1%), black sesame (28.4%), red pepper (24.5%) and thyme (23.8%). Carrot (34.0%), olive (33.2%), pomegranate (32.0%), parsley (27.9%) and walnut (24.0%) are mostly used as fresh herbs. Green tea (34.5%), linden (32.5%), rose hip (29.2%), bee balm (21.2%) and fennel (19.0%) are preferred as herbal teas.

Conclusion: As a result of this research, it was determined that the high use of herbal products. But, majority of the individuals got herbal products from the herbalist and they did not share herbal products with their doctor. This situation should be taken seriously by healthcare professionals and damage to the health of the patient should be avoided by making the necessary information.

Key Words: herbal product, dry herb, fresh herb, herbal tea

GİRİŞ

Bitkilerin insanoğlu tarafından çok eski çağlardan bu yana tedavi amacıyla kullanıldığı bilinmektedir. Hatta bazı kaynaklar, bitkilerin ilaç olarak kullanımının neandertal döneme kadar uzandığına işaret etmektedir (1).

Doğal kaynaklardan hazırlandıkları için zararlı etkilerinin olmayacağı düşünülen; başta bitki olmak üzere hayvansal kökenli ürünler ile vitamin, mineral ve benzeri maddeleri kapsayan ve alternatif tedavi yaklaşımında kullanılan ürünlerin tüketimi, son

yıllarda tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitlenerek artmaktadır (2, 3).

Bitkisel ürünlerin kullanım sıklığını etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörler incelendiğinde sağlığın; sosyal, ekonomik, fizyolojik belirleyicileri, toplumda süregelen değersel değişimler öne çıkmaktadır. Sağlık kavramı kapsamında yaşanan süreç değişimi de bitkisel ürün kullanımının artmasına bağlı nedenler arasında sayılabilir (4).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2000 yılındaki

raporunda; Avrupa, Avustralya ve Kuzey Amerika’da yaşayan insanların yaklaşık yarısının alternatif-destekleyici tedavi yöntemlerinden birini kullandıklarını ve bu yöntemler içinde en çok kullanılan yöntemin de bitkisel ilaçlar olduğunu açıklamıştır. Aynı raporda; Çin’de kullanılan bitkisel ilaçların, aynı ülkede total olarak kullanılan ilaçların yaklaşık %30-50’sini oluşturduğu ifade edilmiştir (5). Afrika toplumlarında bu gibi ürün kullanımı toplumun %80’inde görülmektedir (6, 7). Amerika Birleşik Devletleri (ABD) bu alanda her yıl 60 milyar dolar harcama yapmaktadır (8). Avrupa’da ise 2003 yılında bu alanda “raf üstü” satılan ürünlere beş milyar dolar harcama yapıldığı bilinmektedir (9).

Ülkemizde birçoğunun kalite kontrolleri yapılmamış ve herhangi bir fizyolojik etkiyi sağlayacak içeriğe sahip olduğuna dair veri bulunmayan birçok bitkisel preparat, “gıda takviyesi” adı altında yüksek fiyatlara kontrolsüz bir şekilde satılmaktadır. Bahsi geçen ürünlerin eczanelerin yanısıra, aktarlarda da rahatlıkla satıldığı görülmektedir. Ayrıca internet üzerinden sosyal medya ve görsel medya aracılığı ile bitkisel ürünler için sürekli tanıtımlar yapılmakta, uzmanı olmayan ünlü veya ünlü olmayan kişiler tarafından tedavide kullanılmalarına ilişkin önerilerde bulunmakta ve yüksek fiyatlara pazarlanarak rant sağlanmaktadır (10).

Halkın büyük kesiminin “bitkisel preparatların doğal kaynaklı olmalarına dayanan, yan etkileri veya zararlı etkileri olmayacağına” dair inançları nedeniyle bu ürünlere büyük rağbet göstermesi de, bu pazarın her geçen gün büyümesine yol açmaktadır. Ancak bitki veya bitkisel ürünlerle reçeteli ilaçların birlikte kullanımı, ciddi sorunları da beraberinde getirebilmekte ve sonuçta birçok hasta, bitkisel kökenli ürünler ile kullandıkları ilaçlar arasında meydana gelebilecek “etkileşme” riski ile karşı karşıya kalmaktadır. ABD’de her yıl 100.000’den fazla ölümün yan etkiler nedeniyle ve bunun da bir bölümünün ilaç etkileşimleriyle olabileceği belirtilmiş olup ölüm nedenleri arasında dördüncü ve altıncı sıralarda

yer aldığı ve ilaç etkileşimlerinin bir bölümünün bitkisel ürün kullanımıyla bağlantılı olabileceği ifade edilmiştir (11). Bu durum, günümüzde özellikle çoklu ilaç tedavisi uygulanan hastaların, çocukların, yaşlıların, gebelik ve süt verme dönemindeki kadınların bilgi eksikliği nedeniyle göz ardı edilen etkileşimlere dayalı olarak ortaya çıkan, istenmeyen, zararlı etkilere maruz kalmasına neden olmaktadır (12).

Bu araştırma; ülkemizde tıbbi amaçla kullanılan bitkisel ürünlere halkın bakış açısı ve kullanımı ile ilgili yeterli sayıda çalışma olmaması nedeniyle üniversite öğrencileri ve aileleri arasında bitkisel ürünlerin kullanım sıklığının ve bireylerin bu ürünler ile ilgili düşüncelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu araştırma; 20 Ekim 2014 - 17 Kasım 2015 tarihleri arasında, Kayseri ilinde yaşayan, 19-65 yaşları arasında olan üniversite öğrencileri ve aileleri üzerinde yapılmış tanımlayıcı bir çalışmadır. Nuh Naci Yazgan Üniversitesi’nde öğrenim gören üniversite öğrencileri ve aileleri araştırma grubunu oluşturmuştur.

Bu araştırma için, 2014/377 Karar No’lu Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’ndan onay alınmıştır. Aynı zamanda Nuh Naci Yazgan Üniversitesi öğrencileri ile araştırmaya başlayabilmek için 35138650-044/320 No’lu Rektörlük Onayı ile çalışma izni alınmıştır.

Evren ve Örnek Seçimi

2014 yılında Nuh Naci Yazgan Üniversitesi’nde öğrenim gören 800 öğrenci olduğu öğrenilmiştir. Araştırmanın örnekleme evreni bilinen örneklem seçme yöntemi ile hesaplanmış, minimum 260 öğrenci olarak belirlenmiştir (13). Veri toplama süresince araştırmaya katılmayı kabul eden 410 üniversite öğrencisi ve 445 yakını olmak üzere toplamda 855 kişiye ulaşılmıştır. Veri toplamadan önce araştırmacı tarafından, 10

üniversite öğrencisi ve yakını üzerinde ön deneme yapılmış ve anket üzerinde gerekli düzeltmelerden sonra veriler toplanmaya başlanmıştır.

Veri Toplama Araçlarının Uygulanması

Üniversite öğrencileri ve ailelerinde bitkisel ürün yaklaşımını belirlemek amacıyla hazırlanan anket formu, kişilere yüz yüze görüşme yöntemiyle araştırmacı tarafından uygulanmıştır. Araştırmaya başlamadan önce, öğrencilere araştırmanın içeriği ve amacı ile ilgili genel bir bilgi verilmiş, araştırmaya katılmayı kabul eden her öğrenciyeye “Onam Formu” okutulup imzalatılmıştır. Bununla birlikte, öğrencilerden araştırma ile ilgili bilgiyi ailelerine aktarması istenmiştir. Araştırmaya katılmayı kabul eden bireylerin listesi çıkarılarak kişiler araştırmacı tarafından telefon ile aranmış, randevu verilerek bireyler ile tek tek görüşülmüş ve yanıtları anket formuna not edilmiştir. Her görüşme yaklaşık 35 dakika sürmüştür.

İstatistiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesi Windows ortamında SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versiyon 22.0 (Inc., Chicago, IL, USA) paket programı kullanılarak yapılmıştır. Nicel verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistikler (ortalama, standart sapma), nitel verilerin değerlendirilmesinde ise sayı ve yüzde tabloları kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farklılıklar ve bitkisel ürün kullanımını etkileyen faktörler “Pearson ki-kare testi” ya da “Fisher’in kesin ki-kare testi” ile analiz edilmiştir. Sonuçlar %95’lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Araştırma kapsamında ankete katılmayı kabul eden 855 bireyin yaş, medeni durum, öğrenim durumu gibi genel özellikleri Tablo 1’de verilmiştir. Erkek ve kadınların yaş ortalamaları sırasıyla $35,2 \pm 10,52$ ve $30,7 \pm 11,80$ ’dir. Bununla birlikte, araştırmaya katılan bireylerin yarıdan fazlası kadın ($n=561$, %65,5) ve

bekardır (%52,0). Erkeklerin yarıdan fazlası ($n=294$, %56,5) ise üniversite mezunudur. Yaş, medeni durum ve öğrenim durumu ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p < 0,05$).

Tablo 2’de bitkisel ürün kullanım durumu ve amacının cinsiyete göre dağılımı gösterilmiştir. Bitkisel ürün kullanımı, kadınlarda (%63,9) erkeklere (%33,7) göre daha fazladır. Bitkisel ürün kullanımı ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p < 0,05$). Ayrıca, zayıflama amacıyla bitkisel ürün kullanımının kadınlarda erkeklere göre daha fazla olduğu belirlenmiştir (sırasıyla %30,6 ve %15,1; $p < 0,05$). Buna karşın bronşit durumunda bitkisel ürün kullanımı erkeklerde kadınlara göre daha fazladır (sırasıyla %15,1 ve %5,8; $p < 0,05$). Gastrit ve mide hastalıklarında, aynı zamanda hazımsızlık ve konstipasyon durumunda bitkisel ürün kullanımı kadınlarda (sırasıyla %13,6, %20,6, %15,0) erkeklere göre (%8,1, %12,1, %5,1) daha fazladır ($p < 0,05$).

Tablo 3’te bitkisel ürün kullanan bireylerin kullandığı bitkisel ürün formu ve kullanılan bitkisel ürün ile ilgili veriler gösterilmiştir. Kadınlarda bitki çayı ve tablet kullanımı (sırasıyla %76,0 ve %9,5) erkeklere göre (sırasıyla %36,6 ve %4,0) anlamlı düzeyde daha yüksektir. Bununla birlikte, erkek ve kadınların büyük çoğunluğu bitkisel ürünü öncelikle aktardan (sırasıyla %75,8 ve %86,6) daha sonra pazardan (%18,2 ve %17,8) temin etmektedir. Bitkisel ürünün eczaneden sağlanma oranı erkeklerde %7,1, kadınlarda ise %8,6 olarak belirlenmiştir ($p > 0,05$).

Katılımcıların yarıdan fazlasının kullandığı bitkisel ürünün kullanım yöntemi ile ilgili bilgiyi öncelikle komşu ve akrabadan sağladığı (erkek: %51,5, kadın: %56,0) belirlenmiştir. Televizyon-radyo ve internetten bitkisel ürün kullanımına yönelik bilgilerin öğrenilmesi de kadınlarda (sırasıyla %29,5, %46,5), erkeklere göre (sırasıyla %19,2, %33,3) anlamlı düzeyde daha yüksektir ($p < 0,05$). Ayrıca, bitkisel ürünü kullananların yaklaşık üçte birinin herhangi bir araştırma yapmadan bitkisel ürün kullandığı belirlenmiştir (erkek: %39,4, kadın: %26,7).

Tablo 1. Araştırmaya katılan bireylerin genel özellikleri

	Erkek (n=294)		Kadın (n=561)		Toplam (n=855)		p
	n	%	n	%	n	%	
Yaş							
18-30	96	32,7	329	58,6	425	49,7	
31-50	186	63,3	207	36,9	393	46,0	0,000*
51-65	12	4,0	25	4,5	37	4,3	
X±SD	35,2±10,5		30,7±11,8		32,3±11,6		
Medeni durum							
Evli	201	68,4	266	47,4	467	54,6	0,000*
Bekar	93	31,6	295	52,6	388	45,4	
Öğrenim durumu							
Okuryazar	6	2,0	27	4,8	33	3,9	
İlkokul mezunu	7	2,4	95	16,3	102	11,9	
Ortaokul mezunu	30	10,2	27	4,8	57	6,7	0,000*
Lise mezunu	85	28,9	220	39,2	305	35,7	
Üniversite mezunu	166	56,5	192	34,2	358	41,8	

*Pearson ki-kare (p<0,05)

Tablo 2. Cinsiyete göre sınıflandırılmış bireylerin bitkisel ürün kullanım durumları ve kullanım amaçları

	Erkek (n=294)		Kadın (n=561)		Toplam (n=855)		p
	n	%	n	%	n	%	
Bitkisel ürün kullanımı							
Evet	99	33,7	359	63,9	458	53,6	0,000*
Hayır	195	66,3	202	36,1	397	46,4	
Kullanım Amacı							
Obezite	15	15,1	110	30,6	125	14,6	0,002*
Soğuk algınlığı	57	57,6	240	66,9	297	34,7	0,087
İştahsızlık	13	13,1	34	9,5	47	5,5	0,437
Bronşit	15	15,1	21	5,8	36	4,2	0,002*
Kuru öksürük	20	20,2	100	27,9	120	14,0	0,184
Gastrit, mide	8	8,1	49	13,6	57	6,7	0,040*
Kanser	-	-	3	0,8	3	0,4	1,000
İdrar yolu hastalıkları	3	3,0	11	2,0	14	1,6	0,728
Hazımsızlık	12	12,1	74	20,6	86	10,1	0,001*
Deri hastalıkları	4	4,0	12	3,3	16	1,9	1,000
Uykusuzluk	-	-	26	7,2	26	3,0	0,006*
Konstipasyon	5	5,1	54	15,0	59	6,9	0,001*
Karaciğer hastalıkları	7	7,1	3	0,8	10	1,2	0,118
Prostat	4	4,0	-	-	4	0,5	

*Pearson ki-kare (p<0,05)

**Fisher'in Kesin ki-kare testi (p<0,05)

Tablo 2 (Devamı). Cinsiyete göre sınıflandırılmış bireylerin bitkisel ürün kullanım durumları ve kullanım amaçları

	Erkek (n=294)		Kadın (n=561)		Toplam (n=855)		p
	n	%	n	%	n	%	
Bağışıklık güçlendirme	6	6,1	42	11,7	48	5,6	0,105
Diyare	10	10,1	21	5,8	31	3,6	0,248
Safra yolu	-	-	6	1,7	6	0,7	0,348
Kadın hastalıkları	-	-	55	15,3	55	6,4	0,000**
Geriatri	-	-	4	0,7	4	0,5	1,000
Kalp hastalıkları	7	7,1	12	3,3	19	2,2	0,218
Romatizma	-	-	9	2,5	9	1,1	0,216

*Pearson ki-kare (p<0,05)

**Fisher'in Kesin ki-kare testi (p<0,05)

Tablo 4'te ise bitkisel ürün kullanan bireylerin kullandıkları bitkisel ürünleri ne kadar süredir ve ne sıklıkta kullandıkları gösterilmiş, aynı zamanda kullanılan bitkisel ürünlerin aylık maliyeti, bitkisel ürün kullanım durumunun doktorla paylaşılması ve bireylerin kullandıkları bitkisel ürün hakkındaki düşünceleri ile ilgili veriler verilmiştir. Tabloya göre, erkeklerin %30,3'ü ve kadınların %27,0'ı her gün bitkisel ürün kullanmaktadır. Kadınların yaklaşık yarısı (%49,4) kullandıkları bitkisel ürünün kullanım süresinin bir yıldan daha fazla olduğunu

belirtmiştir. Ayrıca, araştırmaya katılan bireylerin tamamına yakını (erkek: %96,0, kadın: %91,6) kullandıkları bitkisel ürünün aylık maliyetinin 0-50 TL arasında olduğunu ifade etmiştir. Katılımcıların büyük çoğunluğu (%74,0), kullandığı bitkisel ürünü doktoruyla paylaşmamaktadır. Erkeklerin %36,4'ü, kadınların ise %27,9'u kullandıkları bitkisel üründen çok yarar gördüklerini ve erkeklerin %40,4'ü, kadınların ise %37,0'ı kullandıkları ürünü başkalarına önerebileceğini belirtmiştir.

Tablo 3. Bitkisel ürün kullanan bireylerin kullandığı bitkisel ürün formu ve kullanılan bitkisel ürün ile ilgili bilgiler

	Erkek (n=99)		Kadın (n=359)		Toplam (n=458)		p
	n	%	n	%	n	%	
Kullanılan bitkisel ürün formu¹							
Taze bitki	54	54,5	211	58,8	265	57,9	0,451
Kuru bitki	31	31,3	130	36,2	161	35,2	0,275
Tablet	4	4,0	34	9,5	38	8,3	0,037**
Şurup	-	-	3	0,8	3	0,7	1,000
Damla	-	-	13	3,6	13	2,8	0,081
Bitki çayı	62	36,6	273	76,0	335	73,1	0,013*
Bitki suyu	15	15,2	83	23,1	98	21,4	0,087
Temin edilen yer¹							
Aktar	75	75,8	311	86,6	386	84,3	0,009*
Komşu	4	4,0	18	5,0	22	4,8	0,588
İnternet	-	-	15	4,2	15	3,3	0,050**
Eczane	7	7,1	31	8,6	38	8,3	0,405
Pazar	18	18,2	64	17,8	82	17,9	0,935
Tavsiye eden kişi¹							
Kendisi	51	51,5	223	62,1	274	59,8	
Yakını	41	41,4	104	29,0	145	31,7	0,042*
Doktor	7	7,1	18	5,0	25	5,5	
Eczacı	-	-	14	3,9	14	3,1	

*Pearson ki-kare (p<0,05)

**Fisher'in Kesin ki-kare testi (p<0,05)

¹Yanıtı 1'den fazla olanlar nedeniyle, toplam sayı n'den büyüktür.

Tablo 3 (Devamı). Bitkisel ürün kullanan bireylerin kullandığı bitkisel ürün formu ve kullanılan bitkisel ürün ile ilgili bilgiler

	Erkek (n=99)		Kadın (n=359)		Toplam (n=458)		p
	n	%	n	%	n	%	
Kullanılan yöntem ile ilgili bilginin nasıl sağlandığı¹							
Komşu, akraba	51	51,5	201	56,0	252	55,0	0,428
TV-radyo	19	19,2	106	29,5	125	27,3	0,025*
Gazete dergi	3	3,0	27	7,5	30	6,6	0,166
İnternet	33	33,3	167	46,5	200	43,7	0,024*
Doktor	7	7,1	33	9,2	40	8,7	0,323
Eczacı	6	6,1	31	8,6	37	8,1	0,405
Sokak ilanı	-	-	3	0,8	3	0,7	1,000
Bitkisel ürününün kullanmadan önce araştırılma durumu							
Araştırma yapmadım	39	39,4	96	26,7	135	29,4	
Yakını araştırdı	20	20,2	76	21,2	96	20,9	0,034*
Kendisi araştırma yaptı	40	40,4	187	52,1	227	49,6	

*Pearson ki-kare (p<0,05)

**Fisher'in Kesin ki-kare testi (p<0,05)

¹Yanıtı 1'den fazla olanlar nedeniyle, toplam sayı n'den büyüktür.

Tablo 5'te bitkisel ürün kullanımını etkileyen faktörler gösterilmiştir. Tablo 5'e göre bitkisel ürün kullanımı ile yaş, medeni durum ve öğrenim durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki belirlenmiştir (p<0,05). Araştırma kapsamında bitkisel ürün kullanan bireylerin yaklaşık yarısının 18-30 yaş aralığında (%55,9) ve üniversite mezunu (%42,5) olduğu saptanmıştır. Şekil 1'de katılımcılar tarafından en sık kullanılan kuru bitkiler, Şekil 2'de en sık kullanılan taze bitkiler ve Şekil 3'te en sık

kullanılan bitki çayları gösterilmiştir. Sorgulanan 95 bitki içinde kuru bitki olarak en çok kullanılan ilk beş bitki sırasıyla karabiber (%37,1), tarçın (%30,1), çörek otu (%28,4), kırmızı biber (%24,5) ve kekik (%23,8)'tir. Taze bitki olarak en çok havuç (%34,0), zeytin (%33,2), nar (%32,0), maydanoz (%27,9) ve ceviz (%24,0); bitki çayı olarak ise yeşil çay (%34,5), ıhlamur (%32,5), kuşburnu (%29,2), oğul otu (%21,2) ve rezene (%19,0) tercih edilmektedir.

Tablo 4. Bitkisel ürün kullanan bireylerin kullandıkları bitkisel ürünlerin kullanım sıklığı, kullanım süresi, aylık maliyet ve bireylerin bitkisel ürünlerin temin edilme yerleri hakkındaki düşünceleri

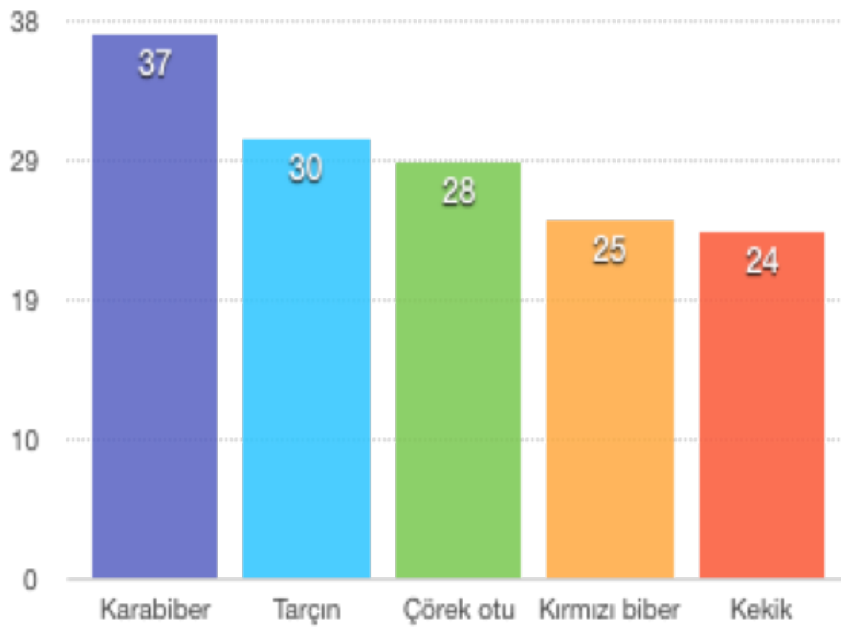
	Erkek (n=99)		Kadın (n=359)		Toplam (n=458)		p
	n	%	n	%	n	%	
Kullanım sıklığı							
Her gün	30	30,3	97	27,0	127	27,7	
Haftada 2-3	19	19,2	88	24,5	107	23,5	
Haftada 1	11	11,1	46	12,8	57	12,4	0,520
15 günde 1	15	15,2	42	11,7	57	12,4	
Ayda 1	24	24,2	86	24,0	110	24,0	
Kullanım süresi							
<1 ay	18	18,2	60	16,7	78	17,0	
1-3 ay	36	36,4	72	20,1	108	23,6	0,003*
3-12 ay	6	6,1	49	13,6	55	12,0	
>1 yıl	39	39,4	178	49,4	217	47,4	
Aylık maliyet							
0-50 TL	95	96,0	329	91,6	424	92,6	0,070
50-250 TL	4	4,0	30	8,4	34	7,4	
Doktorla paylaşma							
Evet	27	27,3	92	25,6	119	26,0	0,741
Hayır	72	72,7	267	74,4	339	74,0	

*Pearson ki-kare (p<0,05)

Tablo 4 (Devamı). Bitkisel ürün kullanan bireylerin kullandıkları bitkisel ürünlerin kullanım sıklığı, kullanım süresi, aylık maliyet ve bireylerin bitkisel ürünlerin temin edilme yerleri hakkındaki düşünceleri

	Erkek (n=99)		Kadın (n=359)		Toplam (n=458)		p
	n	%	n	%	n	%	
Bitkisel ürün hakkındaki düşünce							
Çok yarar gördüm	36	36,4	100	27,9	136	29,7	
Hiç görmedim	3	3,0	21	5,8	24	5,3	
Başkalarına öneririm	40	40,4	133	37,0	173	37,8	
Başkalarına önermem	8	8,1	27	7,9	35	7,6	0,110
Yarar gördüm ve öneririm	12	12,1	66	18,4	78	17,0	
Yarar görmedim ve önermem	-	-	12	3,3	12	2,6	

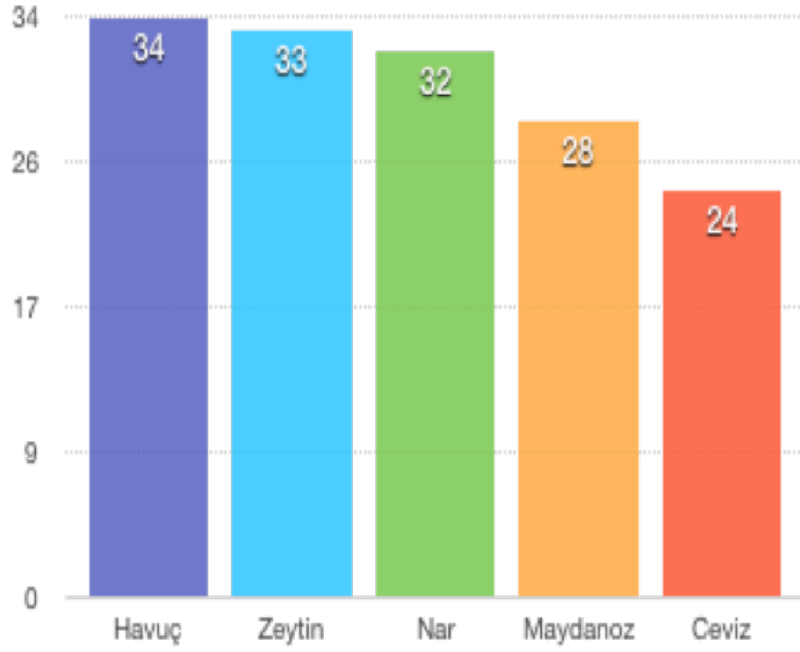
*Pearson ki-kare (p<0,05)

**Şekil 1.** Katılımcıların en sık kullandıkları kuru bitkilerin dağılımı (%)

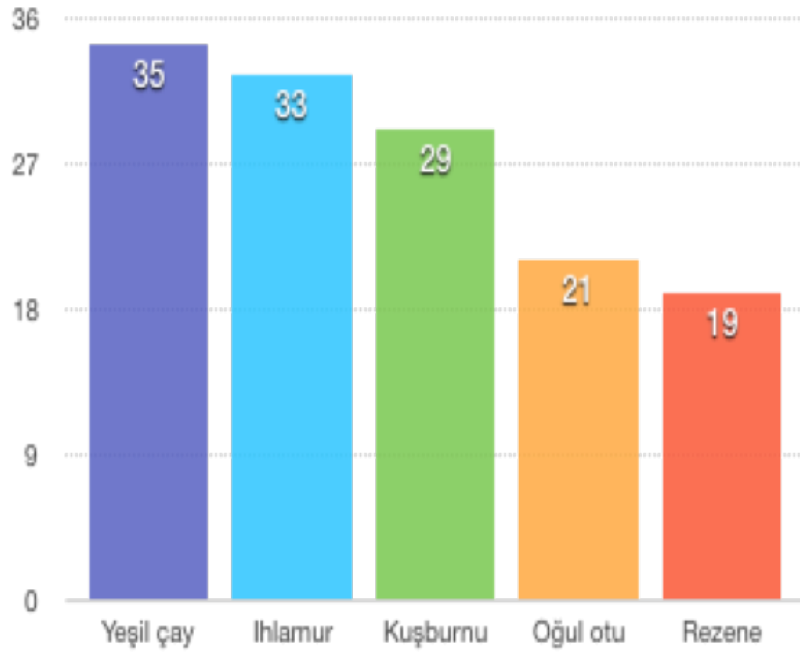
Tablo 5. Bitkisel ürün kullanımını etkileyen faktörler

	Bitkisel Ürün Kullanan (n=458)		Bitkisel Ürün Kullanmayan (n=397)		p
	n	%	n	%	
Yaş					
18-30	256	55,9	169	42,6	
31-50	165	36,0	228	57,4	0,000*
51-65	37	8,1	-	-	
Medeni Durum					
Evli	227	49,6	240	60,5	
Bekar	231	50,4	157	39,5	0,005*
Eğitim Düzeyi					
Okuryazar	27	5,9	6	1,5	
İlkokul Mezunu	36	7,9	66	16,6	
Ortaokul Mezunu	30	6,6	27	6,8	0,000*
Lise Mezunu	170	37,1	135	34,0	
Üniversite Mezunu	195	42,5	163	41,1	

* Pearson ki-kare ($p < 0,05$), yüzdeler sütun yüzdesidir.



Şekil 2. Katılımcıların en sık kullandıkları taze bitkilerin dağılımı (%)



Şekil 3. Katılımcıların en sık kullandıkları bitki çaylarının dağılımı (%)

TARTIŞMA

Kayseri ilinde öğrenim gören üniversite öğrencileri ve ailelerinin bitkisel tedavi yöntemlerine bakış açısını değerlendirmek amacıyla planlanıp yürütülen araştırmaya katılan 855 bireyden 458 katılımcının (%53,6) bitkisel ürün kullandığı belirlenmiştir. Yapılan bu araştırmada elde ettiğimiz oran, ülkemizde 28 ilde 1053 kişi üzerinde halkın kullandığı bitkisel ürünlerini saptamaya yönelik yapılan araştırmada elde edilenden daha düşük (%61,2) (14), Nur ve ark., (15) yetişkin üzerinde elde ettiği sonuçtan (%39,2) daha yüksektir. Araştırmalardaki örneklem sayılarının farklı olması, bitkisel ürün kullanım oranlarını etkilemiş olabilir.

Yapılan bu araştırmada, daha önce bu konu ile ilgili yapılmış araştırmalara benzer olarak, bitkisel ürün kullanımının kadınlarda (%63,9) erkeklere (%33,7) göre daha fazla olduğu belirlenmiştir (16-19). Ayrıca bu araştırmada, eğitim düzeyi yüksek olanlarda da literatürle uyumlu olarak bitkisel ürün kullanımı daha fazladır (16). Doğaya dönüşün bir slogan haline geldiği günümüzde bitkisel ürün kullanımının eğitim düzeyi yüksek kişiler arasında popüler hale geldiği düşünülebilir. Ancak, eğitim düzeyi ile bitkisel ilaç kullanımının paralellik göstermediği çalışma da mevcuttur (20).

Bu araştırmada, bitkisel ürünlerin en çok soğuk algınlığı (%34,7) ve obezite (%14,6) amacıyla kullanıldığı belirlenmiştir. ABD’de yapılan bir çalışmada; soğuk algınlığı için reçetesiz ilaç kullanım prevalansı %56,0, Hindistan’da üniversite öğrencileri ile yapılan bir çalışmada da %57,8 olarak bildirilmiştir (21, 22). WSMI (The World Self Medication Industry-Dünya Kendi Kendine Tedavi Endüstrisi) tarafından 2008 yılında hazırlanan raporda sık karşılaşılan sağlık problemleri (baş ağrısı, soğuk algınlığı, gastrointestinal hastalıklar, kas ağrıları gibi) için reçetesiz ilaç kullanma prevalansları bu araştırmada elde edilene benzer olarak; ABD’de %33, İngiltere, İspanya ve İsveç’te

%24, Almanya’da %28 ve Güney Afrika’da %37 olarak bildirilmiştir (23).

Bitkisel ürünlerin büyük bir bölümü aktarlarda, baharatçılarda, bitkisel ürün satan satış noktalarında veya internetteki satış siteleri aracılığı ile halka sunulmakta, sadece küçük bir bölümü eczaneler aracılığı ile halka ulaştırılmaktadır. Yapılan bu araştırmada da, erkek ve kadınların büyük çoğunluğunun bitkisel ürünü öncelikle aktardan (sırasıyla %75,8 ve %86,6) daha sonra pazardan (%18,2 ve %17,8) temin ettiği saptanmıştır. Bitkisel ürünlerin eczaneden sağlanma oranı erkeklerde %7,1, kadınlarda ise %8,6 olarak belirlenmiştir. Ülkemizde özellikle internet veya aktarlar üzerinden bilinçsizce, bilgisizce ve çoğunlukla da satışa endekli olarak bitkisel ürünler pazarlanmaktadır. Tıbbi bitkisel ürünlerle ilgili uygulamalar bu konuda yetkin kurumların önderliğinde yapılmalıdır. Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu (TİTCK), sağlık beyanıyla satışa sunulacak ürünlerin sağlık beyanlarının incelenerek bu beyanlara izin verilmesi, izinsiz veya gerçeğe aykırı sağlık beyanıyla yapılan satışların denetlenmesi, gerektiğinde durdurma, toplama, toplatma ve imha iş ve işlemlerinin yapılması veya yaptırılması, izin ve sağlık beyanları yönünden bunların reklam ve tanıtımlarının denetlenmesi ve aykırı olanların duyurulması ile ilgili iş ve işlemleri yürütmektedir (24).

Medyanın cari kaygılar ile hemen hemen her gün bitkisel ürünlerle tedavi hakkında yeterli araştırma yapılmadan eksik ve yanlış bilgilere yer vermesi önemli bir sorundur. Özellikle yerel televizyonlar ve yurtdışından yayın yapan televizyonlar bu ürünleri “her derde deva”, “tamamen doğal”, “başka hiçbir ürün kullanmanıza gerek yok” biçimindeki sloganlarla piyasaya sürmekte, sonuç olarak Radyo Televizyon Üst Kurulu (RTÜK) ve Sağlık Bakanlığı bu konudaki denetimlerde yetersiz kalmaktadır. Televizyon ve internet gibi medya ortamlarında

zararsız diye satılan bu ürünler özellikle hamilelerde, emziren anneler ve çocuklarda ciddi sakıncalara sebep olabilmektedir (25).

Bitkisel ürün kullanımı ile ilgili 3876 yetişkin üzerinde yapılan bir araştırma sonucunda, katılımcıların %45,1'inin kitlesel medya araçlarından etkilenecek bitkisel ilaç kullanmaya karar verdikleri, sadece %29,1'inin hekimlerinden veya diğer sağlık personelinden bitkisel ilaçlar ile ilgili bilgi aldıkları, yalnızca %37,9'unun ise doktorunu bu ilaçları kullandığına dair haberdar ettiği şeklinde veriler elde edilmiştir (15). Nordeng ve ark., (26) Norveçli 400 kadın üzerinde yaptığı araştırma sonucunda, hamilelikte bitkisel ilaç kullanımına yönelmenin genellikle arkadaşlar ve aile üyelerinin tavsiyesiyle olduğunu belirlemişlerdir. Benzer şekilde, gastroenteroloji kliniğine başvuran hastaların tamamlayıcı tıp uygulamalarını belirlemek amacıyla 216 hasta üzerinde yapılan bir araştırmada, hastaların yaklaşık yarısının arkadaş veya tanıdıklarından duyarak bitkisel ilaç kullandığı tespit edilmiştir (27). Yapılan bu araştırmada da katılımcıların yarıdan fazlası kullandığı bitkisel ürünün yöntemi ile ilgili bilgiyi öncelikle komşu ve akrabadan sağladığı belirlenmiştir. Televizyon-radyo ve internette bitkisel ürün kullanımına yönelik bilgilerin öğrenilmesi de anlamlı düzeyde yüksektir.

Marignani ve ark., (17) karaciğer hastalarının bitkisel ürün kullanımlarını belirlemeye yönelik yaptıkları araştırmasında; araştırmaya katılan tüm hastaların %72'sinin, bitkisel ilaçların yan etkileri veya ilaç etkileşimine sebep olabileceğini bilmedikleri, %67'sinin ise konvansiyonel ilaç tedavisinin yanısıra bitkisel ilaç da kullandıkları bulunmuştur. Araştırmamızda da, bitkisel ürünü kullananların yaklaşık üçte birinin herhangi bir araştırma yapmadan bitkisel ürün kullandığı belirlenmiştir. İlaçla ilgili herhangi bir bilgisi olmayan aktarlardan, medya kanallarından ve internet ortamından temin edilen bitkisel ürünleri

kullanan hastalarda ciddi etkileşim (bitkisel ürün-ilaç, bitkisel ürün-hastalık, bitkisel ürün-organ vb.) problemleri gözlenebilmektedir (28).

Yapılan araştırmalara göre, bitkisel ürün kullananların büyük bir kısmı, kullandıkları ürünler konusunda sağlık danışanlarını (hekim, eczacı, diş hekimi, hemşire vb.) bilgilendirmemektedir. Zaffani ve ark., (29) İtalyan kadınlar üzerinde yaptıkları araştırmada; katılımcıların %72,7'si bitkisel ürünleri kullanırken, herhangi bir sağlık çalışanına danışmadığını söylemiştir. Yapılan başka bir çalışmada; toplumun bitkisel ürünleri "güvenilir" olarak algılamaları, "zararsız" olduğuna inanmalarından ileri geldiği ve bu nedenle halkın büyük bir kısmının bitkisel ürünler ve vitamin kullandıklarını hekimlerine söyleme gereği duymadığı belirtilmiştir (30). Yine benzer şekilde, Tip 1 diyabetli 195 çocuk üzerinde yapılan araştırmada; bitkisel ilaç kullananların %81,2'sinin hekimini bitkisel ilaç kullanımından haberdar etmediği tespit edilmiştir. Bitkisel ürün kullanımı ile ilgili 3876 yetişkin üzerinde yapılan bir araştırma sonucunda; katılımcıların sadece %29,1'inin hekimlerinden veya diğer sağlık personelinden bitkisel ilaçlar ile ilgili bilgi aldıkları, yalnızca %37,9'unun ise doktorunu bu ilaçları kullandığına dair haberdar ettiği şeklinde veriler elde edilmiştir (15). Bu araştırmada da, bu konu ile ilgili yapılan araştırmalara benzer olarak katılımcıların büyük çoğunluğunun (%74), kullandığı bitkisel ürünü doktoruyla paylaşmadığı belirlenmiştir. Özellikle konvansiyonel ilaçlarla birlikte kullanılan bitkisel ürünlerin neden olabileceği ilaç etkileşimlerinden hastalarını koruyabilmeleri için hekimlerin hastaları ile daha yakın bir diyalog içerisinde olmaları, onları yargılamamaları ve konuyla ilgili onlara açıklama yapabilecek düzeyde bilgi sahibi olmaları gerekmektedir. Ayrıca bitkisel ürünlerin kullanımı ile ilgili olarak halkımızda var olan olağanüstü arzusunun farkına varmak, tıbbi tedavilerin yetersiz kaldığı durumlarda hastaların umutsuzluğa kapılarak bu tür

ürünler üzerinden büyük maddi kazançlar sağlayan kişilerin ellerine düşmelerini, kandırılmalarını ve zarar görmelerini de önleyecektir.

Bu araştırmada, sorgulanan 95 bitki içinde kuru bitki olarak en çok kullanılan ilk beş bitki sırasıyla karabiber (%37,1), tarçın (%30,1), çörek otu (%28,4), kırmızı biber (%24,5) ve kekik (%23,8)'tir. Taze bitki olarak en çok havuç (%34,0), zeytin (%33,2), nar (%32,0), maydanoz (%27,9) ve ceviz (%24,0); bitki çayı olarak ise yeşil çay (%34,5), ıhlamur (%32,5), kuşburnu (%29,2), oğul otu (%21,2) ve rezene (%19,0) tercih edilmektedir. Ancak, sağlık etkileri/riskleri kanıtlanmamış olan bitkisel ürünlerin kullanımı istenmeyen durumlara

sonuçlanabilir. Bitkisel ürünlerin, bitkinin doğru kısmının toplanmasından, etkili maddelerinin saptanmasına, ağır metal ve mikropların bulaş denetimlerinden ürün haline getirilmesine ve kullanımına kadar gerekli bilgi ve titizlikten yoksun olunması halinde çok sayıda sağlık riski oluşturacağı belirtilmektedir (31, 32).

Sonuç olarak, bitkisel ürün kullanımının sadece sağlıkla alakalı bir durum olmadığını ve bu ürünlerin kullanımının sosyal ve kültürel boyutu olduğunu da unutmayarak, tüm sağlık profesyonelleri tarafından durum ciddiye alınmalı ve gerekli bilgilendirme yapılarak, hastaların sağlığının zarar görmesi engellenmelidir.

KAYNAKLAR

1. Kleiner SM. The true nature of herbs. *Phys Sports Med*, 1995; 23:13-14.
2. Durmaz Akyol A, Öz B. The use of complementary and alternative medicine by patients with cancer: In Turkey. *Complement Ther Clin Pract*, 2011; 17: 230-4.
3. Ceylan S, Azal Ö, Taşlipinar A, Türker T, Açikel CH, Gulec M. Complementary and alternative medicine use among Turkish diabetes patients. *Complement Ther Med*, 2009; 17: 78-83.
4. Stasio MJ, Curry K, Sutton-Skinner KM, Glassman DM. Over-the-counter medication and herbal or dietary supplement use in college: dose frequency and relationship to self-reported distress. *J Am Coll Health*, 2008; 56(5): 535-47.
5. Gürün MS. Bitkisel Tıp. ANKEM, 2004; 18: 133-6.
6. Anonymous. WHO traditional medicine strategy 2002-2005. http://www.wpro.who.int/health_technology/book_who_traditional_medicine_strategy_2002_2005.pdf, Erişim Tarihi: 27.05.2016.
7. Willcox ML, Bodeker G. Traditional herbal medicines for malaria. *BMJ*, 2004; 329: 11569.
8. Tilburt JC, Kaptchuk TJ. Herbal medicine research and global health: an ethical analysis. *Bull World Health Organ*, 2008; 86(8): 594-9.
9. De Smet PA. Herbal medicine in Europe-relaxing regulatory standards. *N Engl J Med*, 2005; 352: 1176.
10. Sarınca Y. Ankara İli Etimesgut Bölgesinde Hastaların Tıbbi Bitkisel Ürünler Bakış Açılarının Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara : Yüksek Lisans Tezi, 2012.
11. Sparreboom A, Cox CM, Acharya RM, Figg DW. Herbal remedies in the United States: potential adverse interactions with anticancer agents. *J Clin Oncol*, 2004; 22(12): 2489-503.
12. Fasinu PS, Bouic PJ, Rosenkranz B. An overview of the evidence and mechanisms of herb-drug interactions. *Front Pharmacol*, 2012; 3: 1-19.
13. Sümbüloğlu V, Sümbüloğlu K. Klinik ve Saha Araştırmalarında Örneklem Yöntemleri ve Örneklem Büyüklüğü. Ankara: Alp. Ofset Matbaacılık; 2005; 103-14.
14. Koçtürk OM, Kalafatçılar ÖA, Özbilgin N, Atabay H. Türkiye'de bitkisel ilaçlara bakış. *Ege Üniv Ziraat Fak Derg*, 2009; 46: 209-14.
15. Nur N. Knowledge and behaviours related to herbal remedies: a cross-sectional epidemiological study in adults in Middle Anatolia, Turkey. *Health & Soc Care Commun*, 2010; 18: 389-95.
16. Lucentefore E, Gallo E, Pugi A, Giommoni F, Paoletti A, Vietri M, et al. Complementary and alternative drugs use among preoperative patients: a cross-sectional study in Italy. *Evid-Based Compl Altern Med*, 2012: 1-6
17. Marignani M, Gallina S, Di Fonzo M, Deli I, Begini P, Gigante E, et al. Use and safety perception of herbal remedies in patients with liver/biliary tract disorders: an Italian study. *J Clin Gastroenterol*, 2010; 44: 54-7.
18. Alkhateeb FM, Doucette WR, Ganther-Urnie JM. Influences on consumer spending for herbal products. *Res Soc Administr Pharm*, 2006; 2: 254-65.
19. Kaufman DW, Kelly JP, Rosenberg L, Anderson TE, Mitchell AA. Recent patterns of medication use in the ambulatory adult population of the United States. *JAMA*, 2002; 287: 337-44.
20. Haliloğlu B, İşgüven P, Yıldız M, Arslanoğlu İ, Ergüven M. Complementary and alternative medicine in children with type 1 diabetes mellitus. *J Clin Res Ped Endo*, 2001; 3: 139-43.
21. Anonymous. A resource from the American College of Preventive Medicine. Over-the-counter. 2011, ACPM, 2011;1-10.

22. Adhikary M. Study of self-medication practices and its determinants among college students of Delhi University North Campus, New Delhi, India. *Int J Med Sci Public Health*, 2014; 3(4): 406-9,
23. Anontmous. WSMI. Responsible Self-Care and Self-Medication. A worldwide review of consumer surveys. www.wsmi.org, Erişim tarihi:27.06.2016.
24. T.C Sağlık Bakanlığı. Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu (TİTCK). Bitkisel ve destek ürünleri. <http://www.titck.gov.tr/Ilac/BitkiselDestekUrunleri#>, Erişim tarihi:27.06.2016.
25. Erdem S, Ata Eren P. Tedavi amacıyla kullanılan bitkiler ve bitkisel ürünlerin yan etkileri. *Turk Hij Den Biyol Derg*, 2009; 66: 133-41.
26. Nordeng H, Havnen GC. Use of herbal drugs in pregnancy: a survey among 400 Norwegian women. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*, 2004; 13: 371-80.
27. Kav T. Use of Complementary and alternative medicine: a survey in Turkish gastroenterology patients. *BMC Complement Alternat Med*, 2009; 9: 41-50.
28. Ernst E. Prevalance of use of complementary/ alternative ve medicine: a systematic review. *Bull World Health Organ*, 2000; 78: 252-7.
29. Zaffani S, Cuzzolin L, Benoni G. Herbal products: behaviors and beliefs among Italian women. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*, 2006; 15: 354-9.
30. Anonmyous. NBJ Herbal and Botanical U.S. Consumer Sales 1999. San Diego, California: NBJ, 2000; 1-3.
31. Ozdemir B, Sahin I, Kapucu H, Celbis O, Karakoc Y, Erdogan S, et al. How safe is the use of herbal weight-loss products sold over the Internet? *Hum Exp Toxicol*, 2012: 1-6.
32. Ohnishi N, Yokoyama T. Interactions between medicines and functional foods or dietary supplements. *Keio J Med*, 2004; 53: 137-50.

2011-2014 yılları arasında kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiyal direnç durumları

Microorganisms isolated from blood cultures between 2011 and 2014 and their state of antimicrobial resistance

Fatma KÖKSAL-ÇAKIRLAR¹, Yavuz UYAR¹, Sinem ÖZDEMİR¹, Ayşe BARIŞ², Ezgi GÖZÜN-ŞAYLAN¹, Zafer HABİP¹, Hrisi Bahar TOKMAN¹, Nevriye GÖNÜLLÜ¹, Murat GÜNAYDIN¹, Nuri KIRAZ¹

ÖZET

Amaç: Kan akımlarındaki enfeksiyonları en yaygın nosokomial enfeksiyonlardan olup önemli mortalite ve morbidite nedenlerindedir. Erken tanı ve tedavi hasta prognozu açısından büyük önem taşımaktadır. Bakteriemi ve sepsis tanısı için en güvenilir yöntem kan kültürüdür. Bu çalışmada, tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına Ocak 2011 - Aralık 2014 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gönderilen kan kültürlerinden, izole edilen mikroorganizmaların tanımlanması ve antibiyotiklere direnç profillerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Kan kültürleri, BACTEC 9120 (Becton-Dickinson Diagnostic Instrument Systems, USA) otomasyon sistemi ile çalışılmıştır. Mikroorganizmaların tanımlanması konvansiyonel yöntemler ve BD Phoenix Otomatize Mikrobiyoloji Tanımlama Sistemi (Becton Dickinson and Company, Sparks, USA) kullanılarak yapılmıştır. Bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon metodu ile çalışılmış ve Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical Laboratory Standards Institute-CLSI) kriterlerine göre değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışmamızda, 22.366 hastadan alınan toplam 50.850 kan kültürü incelenmiş ve kültürlerin 7510 (%14,7)'unda üreme saptanmıştır. Üreyen

ABSTRACT

Objective: Bloodstream infections are the most common nosocomial infections and significant reasons for mortality and morbidity. Early diagnosis and treatment are of vital importance in terms of patient prognosis. Blood culture is the most reliable method for the diagnosis of bacteremia and sepsis. The aim of this study was to identify the microorganisms isolated from the blood cultures sent to medical microbiology laboratory from various clinics between January 2011 and December 2014 and to determine antibiotic resistance profiles of these microorganisms.

Methods: Blood cultures were studied by the BACTEC 9120 (Becton-Dickinson Diagnostic Instrument Systems, USA) automation system. The identification of the microorganisms was carried out by using both conventional methods and BD Phoenix Automated Microbiology Identification System (Becton Dickinson and Company, Sparks, USA). Antibiotic susceptibility of the bacteria was studied with Kirby-Bauer disc diffusion method and evaluated as regards the criteria of Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).

Results: One A total of 50.850 blood cultures taken from 22.366 patients were examined in this study and reproduction was detected in 7.510 (14.7%) of the

¹İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul



İletişim / Corresponding Author : Fatma KÖKSAL-ÇAKIRLAR

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 34098
İstanbul- Türkiye Tel : +90 543 678 33 36 E-posta / E-mail : zkoksal@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 15.04.2016
Kabul Tarihi / Accepted : 24.07.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.04809

Köksal-Çakırlar F, Uyar Y, Özdemir S, Barış A, Gözün-Şaylan E, Habip Z, Tokman HB, Gönüllü N, Günaydın M, Kiraz N. 2011-2014 yılları arasında kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiyal direnç durumları. Türk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(1): 55-70

mikroorganizmaların 4894 (%67,5)'ü Gram pozitif kok (%71'i plazma koagülaz negatif stafikok, %9'u *Staphylococcus aureus*, %9'u *Enterococcus* sp., %6'sı *Streptococcus* sp.), 181 (%2,4)'i Gram pozitif çomak, 2105 (% 28)'i Gram negatif çomak (%32,9'u *E. coli*, %23,9'u *Klebsiella* sp., %16'sı *Pseudomonas aeruginosa*, %13'ü *Acinetobacter* sp., %5,8'i *Enterobacter* sp.), 21 (%0,27)'si anaerob bakteri ve 305 (%4)'i mantar türü (%96,7'i *Candida* sp.) olarak belirlenmiştir. Metisilin direnci, plazma koagülaz negatif stafilokoklarda %34, *S. aureus*'da %20,9 olarak tespit edilmiştir. Enterokoklarda vankomisin direnci %13 olarak saptanmıştır. Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz oluşumu *E. coli*'de %34 ve *Klebsiella* sp.'de %0 olarak bulunmuştur. Karbapenemaz üretimi *E. coli*'de %8 ve *Klebsiella* sp.'de %17 olarak belirlenmiştir. *E. coli* ve *Klebsiella* sp.'nin direnç oranları sırasıyla ampisiline %44,7 ve %100, gentamisine %26 ve %27, amikasin %15 ve %17, amoksisilin + klavulanik aside %30 ve %35, sefuroksime %41 ve %51, sefepime %35 ve %50, seftazidim ve sefotaksime %36 ve %50, siprofloksasine %39,5 ve %31,8'dir. *Acinetobacter* sp. ve *P. aeruginosa*'nın ise sırasıyla seftazidime %78 ve %22, siprofloksasine %64 ve %12,6, imipenem %63,6 ve %26,5, gentamisine %56 ve %11,8, amikasin %53 ve %7, piperasilin + tazobaktam %58 ve %12, sefepime %61 ve %16,6, sefotaksime %74,7 ve %22 ve sefoperazon + sulbaktam %56,7 ve %11 olarak görülmüştür.

Sonuç: Hastanemizde önemli problem olan metisiline dirençli stafilokoklar, *E. coli* ve *Klebsiella* cinsi bakteriler, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* cinsi bakterilerin çoklu ilaç direncine sahip oldukları ve bu direncin zaman içinde değişim gösterdiği anlaşılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: kan akım enfeksiyonları, kan kültürü, antibiyotik, antimikrobiyal direnç

cultures. 4.894 (67.5%) of the reproduced microorganisms were Gram positive cocci (71% plasma coagulase negative staphylococci, 9% *Staphylococcus aureus*, 9% *Enterococcus* sp., and 6% *Streptococcus* sp.), 181 (2.4%) were Gram positive bacillus, 2105 (28%) were Gram negative *Bacillus* (32.9% *E. coli*, 23.9% *Klebsiella* sp., 16% *Pseudomonas aeruginosa*, 13% *Acinetobacter* sp., and 5.8% *Enterobacter* sp.), 21 (0.27%) were anaerobe bacteria and 305 (4%) were fungus type (96.7% *Candida* sp.). Methicillin resistance was detected as 34% in plasma coagulase negative staphylococci and 20.9% in *S. aureus*. Vancomycin resistance in enterococcus was determined as 13%. Broad spectrum beta lactamase formation was found as 34% in *E. coli* and 50% in *Klebsiella* sp. Carbapenemase production was detected as 8% in *E.coli* and 17% in *Klebsiella* sp. Resistance rates of *E.coli* and *Klebsiella* sp. to ampicillin was respectively as 44.7% and 100%, to gentamicin 26% and 27%, to amikasin 15% and 17%, to amoxicillin+clavulanate acid 30% and 35%, cefuroxime 41% and 51%, to cefepime 35% and 50%, to ceftazidime and cefotaxime 36% and 50%, and to ciprofloxacin 39.5% and 31.8%. Resistance rates of *Acinetobacter* sp. and *P. aeruginosa* to ceftazidime was respectively 78% and 22%, to ciprofloxacin 64% and 12.6%, to imipenem 63.6% and 26.5%, to gentamicin 56% and 11.8%, to amikasin 53% and 7%, to piperacillin + tazobactam 58% and 12%, to cefepime 61% and 16.6%, to cefotaxime 74.7% and 22%, and to cefoperazone + sulbactam 56.7% and 11%.

Conclusion: It is understood that staphylococci resistant to methicillin, which is a significant problem in our hospital, bacteria like *E. coli* and *Klebsiella* sp., and bacteria like *Pseudomonas* and *Acinetobacter* genus are multiple-drug resistant and that this resistance has undergone a change over time.

Key Words: bloodstream infections, blood culture, antibiotic, antimicrobial resistance

GİRİŞ

Hastane kan akım enfeksiyonları en yaygın nozokomiyal enfeksiyonlardır (1). Tıp alanındaki ilerlemelere ve hastane enfeksiyonlarına yönelik koruma ve kontrol önlemlerine rağmen halen hastalar için en önemli mortalite ve morbidite nedenlerinden biridir (2). Bu enfeksiyonlarda, erken tanı ve uygulanacak antimikrobiyal tedavi hastaların prognozu açısından büyük önem taşımaktadır (1, 2). Bakteriyemi ve sepsise yol açan etken mikroorganizmaların saptanması ve izole edilebilmesi için en güvenilir laboratuvar tanı yöntemi; kan kültürüdür (3). Günümüzde, tanıda kan kültürü şişelerindeki CO₂, pH ve redoks potansiyeli değişikliklerinin floresan veya kolorimetrik yöntemlerle saptanması temeline dayanan hızlı ve otomatize kan kültür sistemleri kullanılmaktadır. Bu sistemler, inkübasyon süresini kısaltma, pozitiflik oranını arttırma, kontaminasyon riskini azaltma ve kullanım kolaylığı gibi avantajlara sahiptir (3).

Kan akım enfeksiyonlarında etken olan mikroorganizmaların ve antibiyotik duyarlılıklarının dağılımı bölgesel hatta aynı hastanenin farklı birimlerinde zaman içerisinde değişiklikler gösterebilmektedir. Etken mikroorganizma ve antibiyotik duyarlılıklarında oluşan bu değişikliklerin her merkez tarafından sürekli olarak belirlenmesi ve klinisyenlere ampirik tedavide yol gösterici olması açısından hayati önem taşımaktadır (1-5).

Bu çalışmada, tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına Ocak 2011 ve Aralık 2014 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gönderilen kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmaların tanımlanması, antibiyotiklere direnç profillerinin belirlenmesi ve sonuçların hastanemizde önceki yıllarda yapmış olduğumuz benzer çalışma ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, Ocak 2011-Aralık 2014 tarihleri arasında; hastanemizin çeşitli kliniklerden tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmiş olan kan

kültürlerinin mikrobiyolojik yönden değerlendirilmesi yapılmıştır. Değerlendirme sonucunda, üreyen mikroorganizmaların türü ve gönderen kliniklere göre dağılımları incelenmiştir.

Çalışmaya dahil edilen kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları retrospektif olarak saptanmıştır.

Aerob Kan Kültürü

BACTEC 9120 (Becton-Dickinson Diagnostic Instrument Systems, USA) otomasyon sistemi ile takip edilen kan kültür şişelerinden “pozitif uyarı” verenlerden Kanlı Agar, Çikolatamsı Agar ve Mac Conkey Agar besiyerlerine pasajları yapılmıştır. Bakteri morfolojisi yönünden Gram boyama ile değerlendirilmiştir. Mikroorganizmaların tanımlanması konvansiyonel yöntemler (katalaz, koagülaz, indol, üreaz, hareket, sitrat, TSI-Triple Sugar Iron gibi) ve gerektiğinde BD Phoenix Otomatize Mikrobiyoloji Tanımlama Sistemi (Becton Dickinson and Company, Sparks, USA) ile tanımlanan mikroorganizmaların antibiyotik diskleri (Oxoid) kullanılarak bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon metodu ile araştırılmış ve Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical Laboratory Standards Institute-CLSI) kriterlerine göre değerlendirilmiştir (6). İstatistiksel hesaplamalarda; Fisher’in kesin kare testi (Fisher’s Exact test, yanılma düzeyi p<0,05) uygulanmıştır.

Anaerob Kan Kültürü

Anaerob kan kültürlerinden hazırlanan Gram preparasyonlarda bakteri görülmesi üzerine Schaedler Agar besiyerine %5 koyun kanı ve 1 mg/mL K1 vitamini eklenerek hazırlanan Anaerob Kanlı Agar, fenil etil alkollü anaerob Kanlı Agar ve kanamisin-vankomisinli anaerob Kanlı Agara ekimleri yapılmıştır. Besiyerleri, anaerobik ortam sağlayan Anaero-Gen (Oxoid ve Mitsubishi Gas Company) kullanılarak anaerobik jarlarda 37 °C’de 2-5 gün inkübe edilmiştir. Ayrıca anaerob kan kültüründe görülen bakterilerin

aerob ya da aerotolerant bakteri olabileceği de düşünülerek kan kültürlerinden iki adet Çikolatamsı Agar ve Kanlı Agar besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. Çikolatamsı Agar ve Kanlı Agar besiyerlerinden birer tanesi 37 °C'de 24-48 saat, diğerleri ise CO₂'li ortamda 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda besiyerlerinde üreme olması halinde, üreyen bakterilerden Gram preparasyonlar hazırlanmıştır. Besiyerlerindeki koloni morfolojileri ve Gram boyanma özellikleri kayıt edilerek standart mikrobiyolojik laboratuvar yöntemleri ile bakterilerin tanısı yapılmıştır.

Anaerob inkübasyon sonucunda anaerob besiyerlerinde üreme görülmesi halinde, üreyen bakterilerden Gram boyama yapılmış ve bakterinin ürettiği besiyeri ile kolonilerin morfolojik özellikleri kayıt edilmiştir. Yalnızca anaerob besiyerlerinde ürettiği belirlenen bakteriler ise üredikleri besiyeri, mikroskopik görüntüleri ve koloni morfolojileri göz önünde bulundurularak API 32 ID (bio Merieux, Fransa) kiti ile üretici firma direktifleri doğrultusunda tanımlanmıştır.

BULGULAR

Bu çalışmada; 22366 hastadan alınan toplam 50850 kan kültürü incelenmiştir. Üreyen kan kültür örneklerinin geldiği kliniklere göre dağılımı Tablo 1'de verilmiştir. Kan kültüründe en çok üreme, acil servis/gözlem ünitesinde (%23) ve iç hastalıkları servisinde (%20) tespit edilmiştir.

Kan kültürlerinin 7510 (%14,76)'sında üreme saptanmıştır. Üreyen mikroorganizmaların 5075 (%67,57)'si Gram pozitif bakteri, 2109 (%28)'i Gram negatif bakteri, 1 (%0,01)'i *Mycobacterium tuberculosis*, 21 (%0,27)'si anaerob bakteri ve 305 (%4)'ü mantar türü olarak belirlenmiştir (Şekil 1). Gram pozitif bakterilerin 4894 (%65)'i Gram pozitif koklar (3643 koagülaz negatif stafilokok, 444 *Staphylococcus aureus*, 316 *Streptococcus* sp., 464

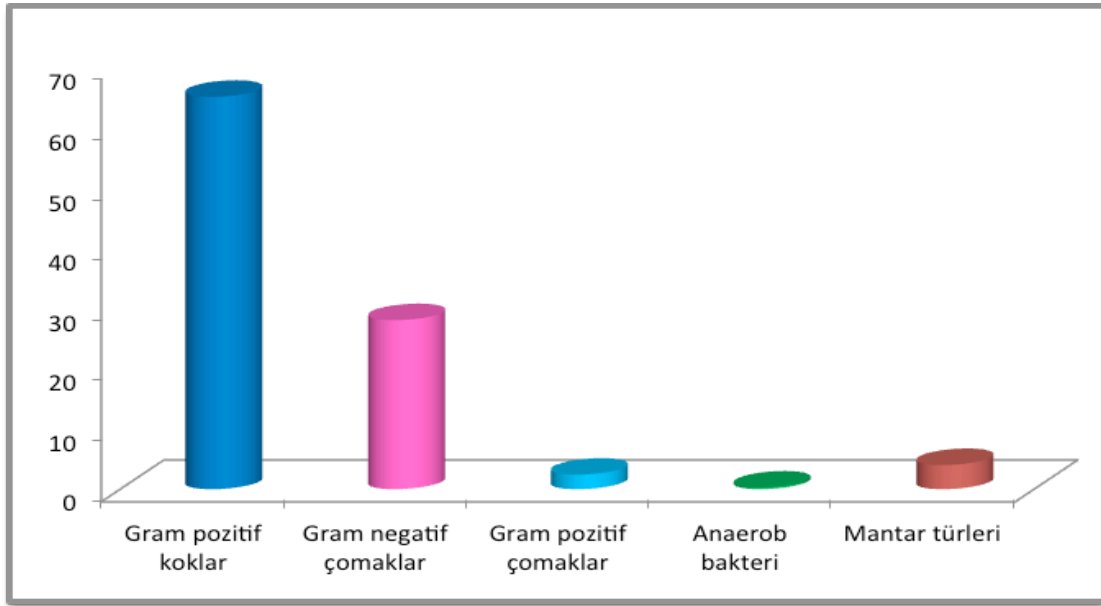
Enterococcus sp., 27 *Micrococcus* sp.) ve 181 (%2,41)'i Gram pozitif çomaklar (8 *Corynebacterium* sp., 1 *Listeria* sp. ve 172 diğer Gram pozitif çomaklar)'tır (Şekil 2). Gram negatif bakterilerin 694'ü *Escherichia coli*, 504'ü *Klebsiella* sp., 339'u *Pseudomonas* sp., 278'i *Acinetobacter* sp., 123'ü *Enterobacter* sp., 54'ü *Stenotrophomonas maltophilia*, 36'sı *Serratia* sp., 31'i *Proteus* sp., 13'ü *Morganella* sp., 12'si *Citrobacter* sp., sekizi *Salmonella* sp., beşi *Alcaligenes xylosoxidans*, dördü *Neisseria* sp., ikisi *Haemophilus influenza*, ikisi *Burkholderia* sp., ikisi *Aeromonas hydrophila*, biri *Kingella* sp. ve biri *Moraxella catarrhalis* olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3). Anaerob bakterilerin 11'i *Peptostreptococcus anaerobius*, beşi *Bacteriodes fragilis*, ikisi *Propionibacterium acnes*, ikisi *Clostridium* sp. ve biri *Fusobacterium* sp. olarak belirlenmiştir. İzole edilen mantar türlerinin 295'i *Candida* sp., yedisi *Fusarium* sp., ikisi *Rhodotorula* sp. ve biri *Saccharomyces cerevisiae* olarak saptanmıştır.

Hastadan alınan kan kültür şişe sayısı, üreyen mikroorganizmanın cinsi, mikroorganizma yükü, üreme süreleri ve hastanın klinik takibini yapan hekimle iletişim bilgileri dikkate alınarak, kontaminasyon oranı %0,49 olarak belirlenmiştir. Yalancı negatiflik görülmemiştir. 17 kan kültür şişesi yalancı pozitif olarak değerlendirilmiştir.

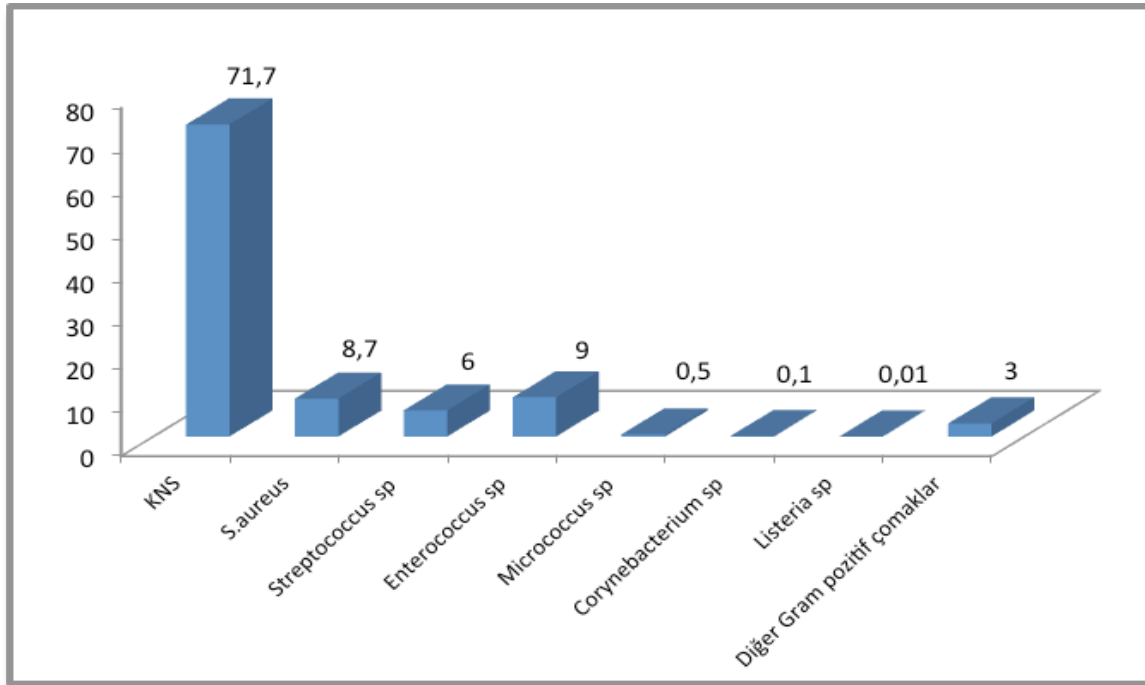
Metisilin direnci, koagülaz negatif stafilokoklar (KNS)'da %34 (3643/1239), *S. aureus*'da %20,9 (444/93) olarak tespit edilmiştir. Tüm stafilokokların metisiline direnç oranları Şekil 4'de verilmiştir. Stafilokoklarda vankomisin ve teikoplanin direnci saptanmamıştır. Enterokoklarda vankomisin direnci %13 olarak tespit edilmiştir. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) oluşumu *E. coli*'de %34 ve *Klebsiella* sp.'de %50 olarak bulunmuştur. Karbapenemaz üretimi *E. coli*'de %8 ve *Klebsiella* sp.'de %17 olarak saptanmıştır.

Tablo 1. Kliniklere göre etken üreyen kan kültürlerinin dağılımı (n=7510)

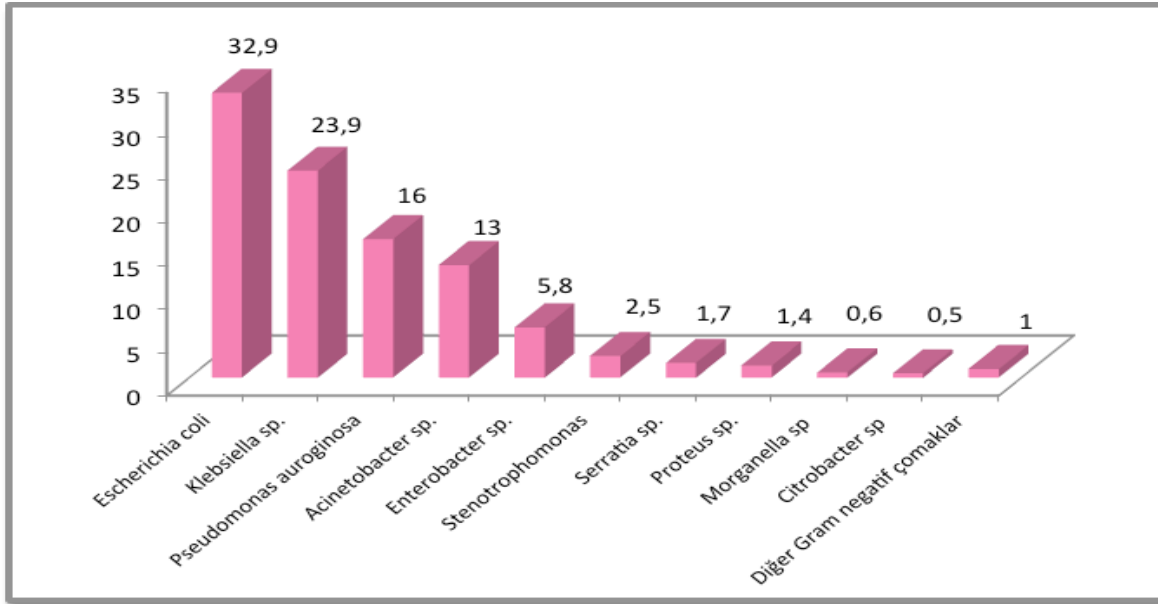
Klinikler / Servisler	Üreme olan Kan Kültürü	
	Sayı	%
Acil Servis ve Gözlem Ünitesi	1726	23
İç Hastalıkları	1500	20
Cerrahi Servisi	1122	15
Yoğun Bakım Ünitesi	975	13
Çocuk Hastalıkları	890	12
Çocuk Yoğun Bakım Ünitesi	450	6
Nöroloji-Beyin Cerrahisi	225	3
Kadın ve Doğum Hastalıkları	70	1
Çocuk Cerrahisi	68	1
Göğüs Hatalıkları	63	1
Yanık Servisi	61	1
Ortopedi ve Travmatoloji	60	1
Diğer	300	4



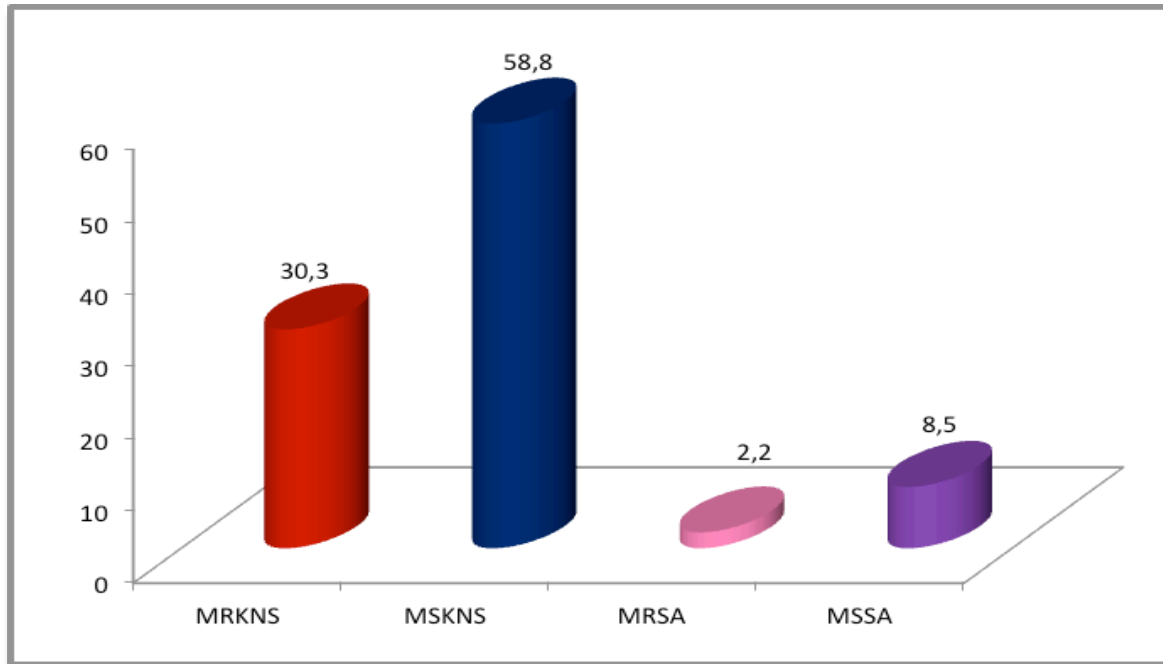
Şekil 1. Kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmaların % dağılım oranları



Şekil 2. Kan kültüründe üreyen Gram pozitif bakterilerin sıklık sırasına göre dağılımları (n=5.075)



Şekil 3. Kan kültüründe üreyen Gram negatif çomakların sıklık sırasına göre % dağılımı (n=2.105)

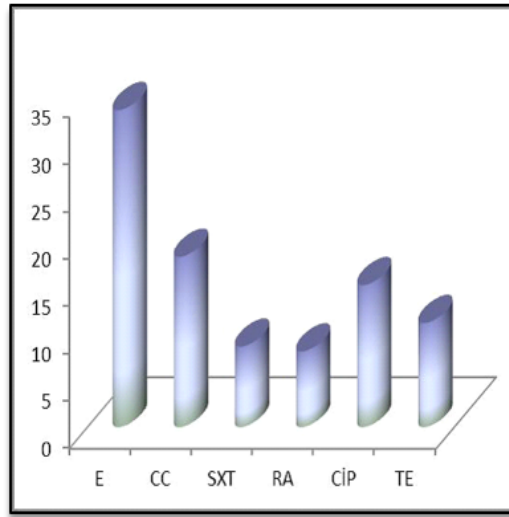


MRKNS: Metisiline dirençli koagülaz negatif stafilocoklar; MSKNS: Metisiline duyarlı koagülaz negatif stafilocoklar; MRSA: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*; MSSA: Metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus*

Şekil 4. Kan kültüründe üreyen Gram pozitif bakterilerin sıklık sırasına göre dağılımları (n=5.075)

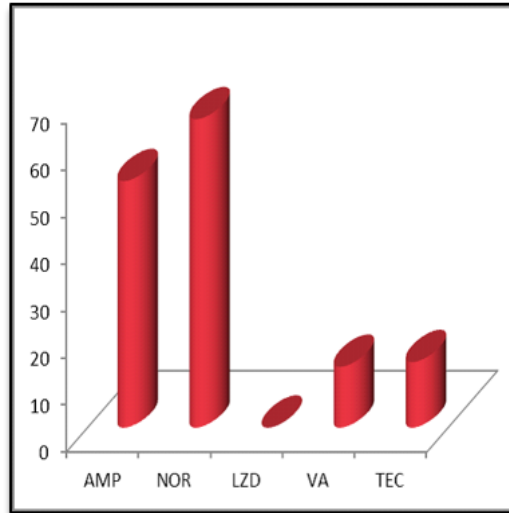
Kan kültüründe üreyen Gram pozitif mikroorganizmalardan *S. aureus*'un eritromisin (%33,5), klindamisin (%18), rifampisin (%8), sulfametoksazol+trimetoprim (%8,5), siprofloksasin (%15) ve tetrasiklin (%11) için

direnç durumları Şekil 5'de ve enterokokların ampisilin (%52,6), norfloksasin (%65,8), linezolid (%0), vankomisin (%13) ve teikoplanin (%14) için direnç durumları Şekil 6'da verilmiştir.



E (Eritromisin), CC (Klindamisin), SXT (Sulfametoksazol+Trimetoprim), RA (Rifampisin), CIP (Siprofloksasin), TE (Tetrasiklin)

Şekil 5. *S. aureus*'un antibiyotiklere direnç % oranları

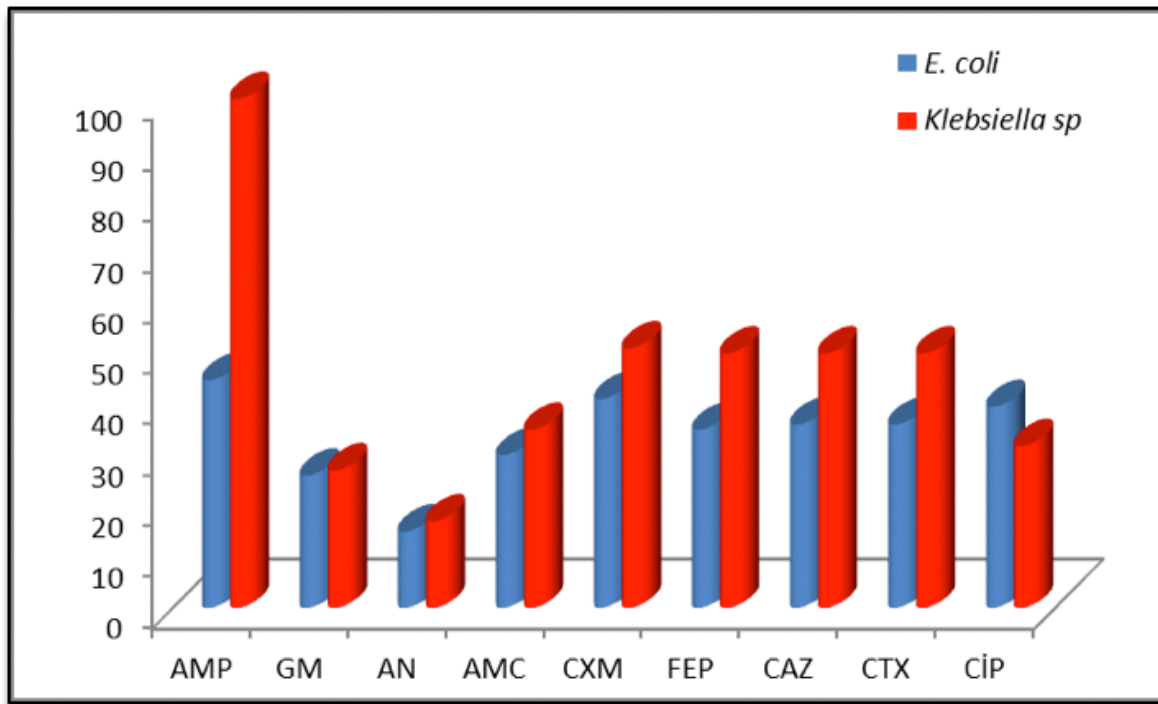


AMP (Ampisilin), NOR (Norfloksasin), LZD (Linezolid), VA (Vankomisin), TEC (Teikoplanin)

Şekil 6. Enterokokların antibiyotiklere direnç % oranları

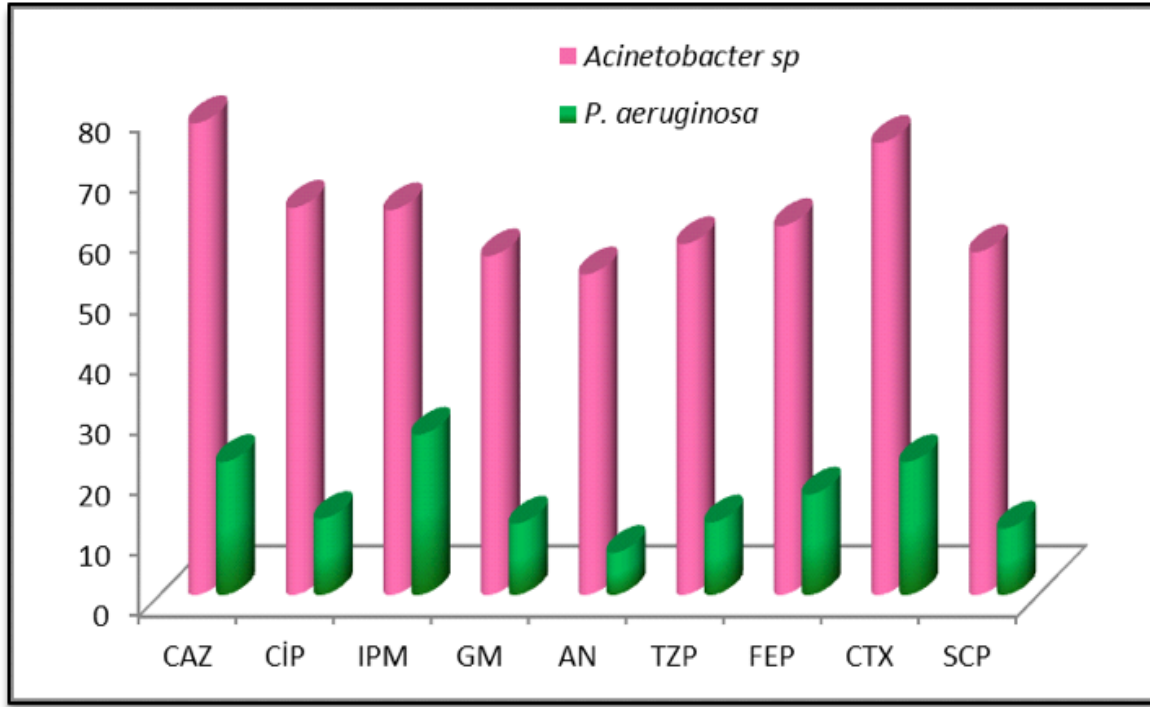
E. coli ve *Klebsiella* sp.'nin sırasıyla ampisilin (%44,7 ve %100), gentamisin (%26 ve %27), amikasin (%15 ve %17), amoksisilin + klavulanik asid (%30 ve %35), sefuroksim (%41 ve %51), sefepim (%35 ve %50), seftazidim ve sefotaksim (%36 ve %50), siprofloksasin (%39,5 ve %31,8) için direnç oranları Şekil 7'de gösterilmiştir.

Acinetobacter sp. ve *P. aeruginosa*'nın sırasıyla seftazidim (%78 ve %22), siprofloksasin (%64 ve %12,6), imipenem (%63,6 ve %26,5), gentamisin (%56 ve %11,8), amikasin (%53 ve %7), piperasilin + tazobaktam (%58 ve %12), sefepim (%61 ve %16,6), sefotaksim (74,7 ve %22) ve sefoperazon + sulbaktam (%56,7 ve %11) için direnç oranları Şekil 8'de yer verilmiştir.



AMP (Ampisilin), AN (Amikasin), AMC (Amoksisilin + Klavulanik asit), CXM (Sefuroksim), FEP (Sefepim), CAZ (Seftazidim), CTX (Sefotaksim), CIP (Siprofloksasin)

Şekil 7. *E. coli* ve *Klebsiella* sp.'nin antibiyotiklere direnç % oranları

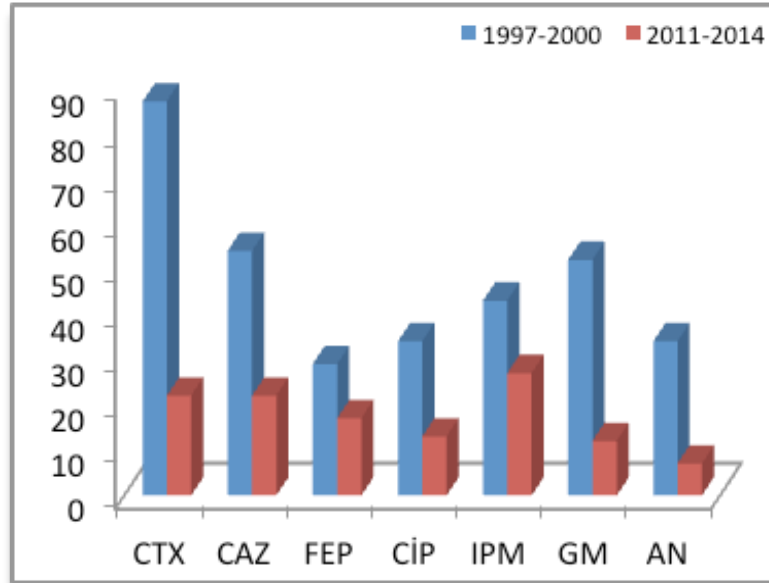


CAZ (Seftazidim), CİP (Siprofloksasin), İPM (İmipenem), GM (Gentamisin), AN (Amikasin), FEP (Sefepim), TZP (Piperasilin + Tazobaktam), CTX (Sefotaksim), SCP (Sefoperazon + Sulbaktam)

Şekil 8. *Acinetobacter sp.* ve *P. aeruginosa*'nın antibiyotiklere direnç % oranları antibiyotiklere direnç % oranları

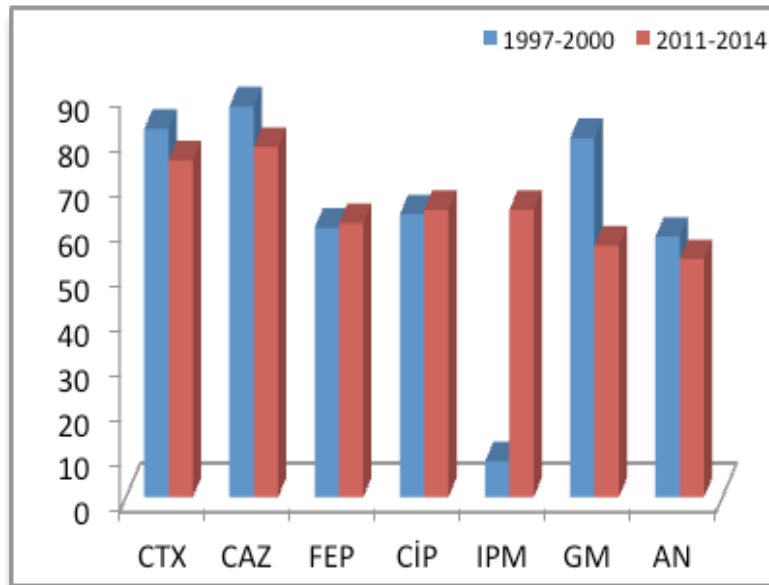
1997-2000 yılları arasında yapmış olduğumuz çalışma ile bu çalışmamızın sonuçları kıyaslandığında; *Pseudomonas* cinsi bakterilerin sefotaksim (%87 ve %22) ($p<0,001$), seftazidim (%54 ve %22) ($p<0,001$), siprofloksasin (%34 ve %13) ($p<0,005$), gentamicin (%52 ve %12) ($p<0,001$) ve amikasin (%34 ve %7) ($p<0,001$) için direnç oranlarında yıllar içerisinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Sefepim (%29

ve %17) ve imipenem (%43 ve %27) için anlamlı olmasada bir düşüş göze çarpmaktadır (Şekil 9). *Acinetobacter* cinsi bakterilerde ise imipenem (%8 ve %64) ($p<0,001$) direncinde önemli derecede artış saptanmıştır. Sefotaksim (%82 ve %75), seftazidim (%87 ve %78), sefepim (%60 ve %61), siprofloksasin (%63 ve %64), gentamisin (%80 ve %56) ve amikasin (%58 ve %53) için direnç oranlarının karşılaştırılması Şekil 10'da verilmiştir.



CTX (Sefotaksim), CAZ (Seftazidim), FEP (Sefepim), CİP (Siprofloksasin)
IMP (İmipenem), GN (Gentamisin), AN (Amikasin)

Şekil 9. 1997-2000 ve 2011-2014 yıllarında *Pseudomonas* cinsi bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç % oranlarının karşılaştırılması



CTX (Sefotaksim), CAZ (Seftazidim), FEP (Sefepim), CİP (Siprofloksasin)
IMP (İmipenem), GN (Gentamisin), AN (Amikasin)

Şekil 10. 1997-2000 ve 2011-2014 yıllarında *Acinetobacter* cinsi bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç % oranlarının karşılaştırılması

TARTIŞMA

Tıp alanında büyük ilerlemelere rağmen, kan akım enfeksiyonları modern dünyada giderek büyüyen bir halk sağlığı problemi olmaya devam etmektedir (1). Bu enfeksiyonlara; invaziv girişimler, gelişen immünsüpresyon ve hastanede yatış sürelerinin uzaması gibi nedenler yol açabilmektedir ve pek çok çalışmada; kan akım enfeksiyonu olan hastaların yaklaşık %30'unun uygunsuz ampirik antimikrobiyal tedavi aldığı ve bunun endişe verici olduğu vurgulanmaktadır (1-9). Hızlı ve doğru tanı hastanın tedavisi açısından kritik öneme sahiptir (1). Kan kültürlerinden en sık izole edilen bakterilerin Gram pozitif bakteriler olduğu rapor edilmektedir (1-4).

Ülkemizde kan kültürlerinden üretilen Gram pozitif bakterilerin izolasyon oranı %27-80 arasında, Gram negatif bakterilerin izolasyon oranı ise %10-64 arasında değişmektedir (10-18). Çalışmamızda; Gram pozitif bakterilerin üreme oranı %67,5, Gram negatif bakterilerin üreme oranı ise %28 olarak tespit edilmiştir. Son zamanlara kadar kan kültürlerinde kontaminant olduğu düşünülen KNS, bakteriyemilerde en sık izole edilen bakterilerdir (19). Ülkemizde son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda da bakteriyemi etkeni olarak Gram pozitif bakteriler arasında en sık KNS (%79-91) izole edilmiştir (14, 15, 17). Çalışmamızda da Gram pozitif bakterilerden en sık KNS (%71), ikinci sıklıkta *S. aureus* (%9) ve *Enterococcus* sp. (%9) izole edilmiştir. KNS; normal florada bulunduğu ve kolayca kolonize olabildikleri için kan kültürlerinde üredikleri zaman gerçek etken ya da kontaminasyon olup olmadığının detaylı olarak incelenmesi gerekmektedir (3, 10, 14, 20). Çalışmamızda, kontaminasyon oranı %0,49 olarak belirlenmiştir.

Metisilin direnci, *S. aureus*'ta farklı bölgelerde veya aynı bölgede yer alan farklı sağlık kuruluşları arasında değişkenlik gösterebilmektedir. Ulusal Antimikrobiyal Direnç Surveyans Sistemi 2011 Yıllık Raporuna göre *S. aureus*'da metisilin direnci %31,5

olarak bildirilmiştir (21). 2008-2012 yılları arasında yapılan bir çalışmada ise yıllara göre %35'ten %18,5'e azalan metisilin direnç oranları tespit edilmiştir (22). Çalışmamızda, KNS ve *S. aureus*'da metisilin direnci sırasıyla %24 ve %20 oranında bulunmuştur. 1997-2000 yılları arasında yapmış olduğumuz çalışmada ise KNS ve *S. aureus*'da metisilin direnci sırasıyla %56 ve %51 oranında belirlenmiştir (23). Bu sonuçlar; hastanemizde önceki yıllara göre *S. aureus*'un metisilin direncinde önemli ölçüde bir düşüş olduğunu göstermektedir ($p<0,05$). Bu aynı zamanda, hastanemizde Enfeksiyon Kontrol Komitesi çalışmalarının da etkili olduğunu ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda; KNS'den sonra en sık izole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinden *E. coli* (%33) ve *Klebsiella* (%24) cinsi bakteriler, nonfermentatif Gram negatif çomaklardan ise *P. aeruginosa* (%16) ve *Acinetobacter* (%13) cinsi bakteriler saptanmıştır. Günümüzde çoğul dirençli bakterilerde artış görülmektedir. Bunların başında GSBL üreten *Enterobacteriaceae* üyeleri gelmektedir. GSBL pozitif bakteriler Gram negatif bakterilere etkili tüm penisilinleri, üçüncü kuşak başta olmak üzere sefalosporinleri ve monobaktamları inaktive edebilmektedir. GSBL'nin hidrolizleyemediği antibiyotikler olarak elde yalnızca penisilinlerden temosilin, sefalosporinlerden sefamisin grubu (sefoksitin, sefotetan, sefmetazol) ve karbapenemler kalmıştır. Ayrıca GSBL oluşturan bakteriler, GSBL üretiminden sorumlu genleri taşıyan plazmidlerin diğer direnç genlerini de beraber taşınmaları nedeniyle amikasin ve netilmisin gibi aminoglikozidler, kinolonlar ve trimetoprim/sülfametoksazol gibi diğer pek çok antibiyotiğe de direnç kazanabilmektedir. Bu durum, bu enzimleri sentezleyen bakteriler ile oluşan kan akım enfeksiyonlarında tedavi başarısızlıklarına, mortalite ve hastane masraflarında önemli artışa neden olmaktadır (24). GSBL üretimi coğrafik bölgeye, hastane tipine ve hasta özelliklerine göre değişiklik göstermektedir (25). Ülkemizde, 2011-

2014 yılları arasında yapılan değişik çalışmalarda; Gram negatif bakterilerdeki GSBL üretimi *E. coli*'de %32-67 ve *Klebsiella* cinsi bakterilerde %38-%74 arasında değişen oranlarda bildirilmektedir (12, 17, 26, 27). Çalışmamızda, GSBL üretimi *E. coli*'de %34 ve *Klebsiella* cinsi bakterilerde %50 olarak bulunmuştur. 2001-2009 tarihleri arasında hastanemizde yaptığımız bir çalışmada; kan kültürlerinden izole edilen *E. coli* ve *Klebsiella* cinsi bakterilerde GSBL üretimi sırasıyla %38,5 ve %44 olarak tespit edilmiştir (28).

GSBL oluşturan Gram negatif bakterilerin yol açtığı enfeksiyonların tedavisinde karbapenemler, beta-laktamazların hidrolizine karşı stabil olmaları nedeniyle iyi bir seçenektir. Ancak tedavide sık kullanılmaları nedeniyle son yıllarda bu ajanlara karşı artan direnç tüm dünyada önemli bir endişe haline gelmiştir. Çalışmamızda, karbapenem direnci *E. coli* ve *Klebsiella* cinsi bakterilerde sırasıyla %8 ve %17 olarak tespit edilmiştir. Ülkemizde yapılan farklı çalışmalarda *E. coli* için karbapenem direnci belirlenmezken *Klebsiella* cinsi bakterilerde karbapenem direnci %16 olarak bulunmuştur (12, 14, 17).

Nonfermantatif bakterilerden *Pseudomonas* cinsi bakterilerin oluşturduğu enfeksiyonların tedavisinde sefalosporinlerden sıklıkla tercih edilen seftazidim için direnç oranları ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda; %34-54,8 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir. (18, 29-32). Çalışmamızda, *Pseudomonas* cinsi bakterilerin seftazidim için direnç oranı %22 olarak bulunmuştur. Diğer sefalosporinlerden sefotaksim ve sefepim direnç oranları sırasıyla %22 ve %17 olarak belirlenmiştir. *Acinetobacter* cinsi bakterilerde ise seftazidim (%78), sefotaksim (%74,7) ve sefepim (%61) için direnç oranlarının daha yüksek olduğu görülmüştür.

Karbapenemler, bakteriyel dirence karşı geliştirilmiş en etkili beta-laktam antibiyotikler olarak bilinmektedir. Ancak, son dönemlerde bazı bakteriler tarafından üretilen karbapenamaza bağlı direnç artışı endişe yaratmaktadır. (32). Ülkemizde yapılan çalışmalarda; *Pseudomonas* cinsi

bakterilerde imipenem için direnç oranları %5-38 arasında bildirilmektedir (16, 30-33). Çalışmamızda; imipenem direnci %26,5 olarak bulunmuştur. *Acinetobacter* sp.'de ise imipenem direnci çok yüksek tespit edilmiştir (%63,6). Ülkemizde ve diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda; *Acinetobacter* cinsi bakterilerde karbapenem direnci gittikçe artan oranlarda bildirilmektedir. Ülkemizde 2000-2004 yılları arasında yapılan bir çalışmada; *Acinetobacter*'lerde imipenem ve meropenem için direnç oranlarının sırasıyla %19'dan %62'ye ve %15,5'ten %55,9'a yükseldiği belirlenmiştir (35). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada ise imipenem ve meropenem direnç oranları sırası ile 1999 yılında %33 ve %53, 2001 yılında %37 ve %68, 2006 yılında ise %63 ve %74 olarak bildirilmiştir (36).

Siprofloksasin *P. aeruginosa* dahil hastane kaynaklı Gram negatif bakteriler ile meydana gelen enfeksiyonlarda etkili bir ajan olarak kullanılmaktadır (29). Ülkemizde yapılan çalışmalarda *P. aeruginosa*'da siprofloksasin için %9-39 arasında değişen oranlarda direnç bildirilmektedir (18, 30-32, 34). Çalışmamızda, hastanemizde *P. aeruginosa*'da siprofloksasin için %12,6 oranında direnç saptanmıştır. *Acinetobacter* cinsi bakterilerde ise yüksek (%64) oranda direnç tespit edilmiştir. Ülkemizde yapılan farklı çalışmalarda da *Acinetobacter* izolatlarında siprofloksasine karşı %75-84 arasında değişen yüksek direnç oranları bildirilmektedir (18, 32, 37).

Pseudomonas cinsi enfeksiyonların tedavisinde aminoglikozitler sinerji elde etmek amacıyla kombine tedavinin bir parçası olarak kullanılmaktadır (32). Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda, amikasin için %10,7-%32 arasında değişen oranlarda direnç bildirilmektedir (30-32, 34). Çalışmamızda; amikasin ve getamisin için direnç oranları sırasıyla %7 ve %12 olarak tespit edilmiştir. *Acinetobacter* cinsi bakterilerde ise gentamisin (%56) ve amikasin (%53) için yüksek direnç oranları saptanmıştır. Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda, amikasin için %32-59 ve gentamisin için %54-93 oranlarında direnç bildirilmektedir (18, 37, 38).

Hastanemizde zaman içerisinde gelişen direnç durumunu değerlendirmek amacıyla 1997-2000 yılları arasında yapmış olduğumuz çalışma ile bu çalışma sonuçlarımızı kıyasladığımızda; *Pseudomonas* cinsi bakterilerde sefotaksim, seftazidim, siprofloksasin, gentamisin ve amikasin için direnç oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ($p<0,001$), *Acinetobacter* cinsi bakterilerde ise imipenem direncinde anlamlı bir artış gözlenmektedir ($p<0,001$).

Sonuç olarak; hastanemizde önemli problem olan metisiline dirençli stafilocoklar, *E. coli* ve *Klebsiella* cinsi bakteriler, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* cinsi bakterilerin çoklu ilaç direncine sahip oldukları ve bu direncin zaman içinde değişim gösterdiği anlaşılmaktadır. Bu nedenle, klinisyen için doğru tedavi politikalarının oluşturulması, özellikle yoğun bakım ve cerrahi kliniklerinde yatan hastalardan izole edilen etken mikroorganizmaların tespiti ve antibiyotik direnç paternlerinin periyodik olarak belirlenmesi büyük önem taşımaktadır.

TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı araştırma görevlileri Enes HACIİSLAMOĞLU, Onur YILDIRIMER ve Deniz TURAN'a katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Kaye KS, Marchaim D, Chen TY, Baures T, Anderson DJ, Choi Y, et al. Effect of nosocomial bloodstream infections on mortality, length of stay, and hospital costs in older adults. *J Am Geriatr Soc*, 2014; 62 (2): 306-11.
2. Lambert ML, Suetens C, Savey A, Palomar M, Hiesmayr M, Morales I, et al. Clinical outcomes of health-care-associated infections and antimicrobial resistance in patients admitted to European intensive-care units: a cohort study. *Lancet Infect Dis*, 2011; 1 (1): 30-8.
3. Jian-nong WU, Tie-er GAN, Yue-xian ZHU, Jun-min CAO, Cong-hua JI, Yi-hua WU, et al. Epidemiology and microbiology of nosocomial bloodstream infections: analysis of 482 cases from a retrospective surveillance study. *Biomed & Biotechnol*, 2015; 16 (1): 70-7.
4. Goto M, Al-Hasan MN. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect*, 2013; 19 (6): 501-9.
5. Roh KH, Kim JY, Kim HN, Lee HJ, Sohn JW, Kim MJ, et al. Evaluation of BACTEC Plus aerobic and anaerobic blood culture bottles and BacT/Alert FAN aerobic and anaerobic blood culture bottles for the detection of bacteremia in ICU patients. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2012; 73 (3): 239-42.
6. Anonymous. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty First Informational Supplement, M100-S25. ISBN: 1-56238-989-0, Wayne, CLSI, 2015.
7. Sogaard M, Norgaard M, Dethlefsen C, Schonheyder HC. Temporal changes in the incidence and 30-day mortality associated with bacteremia in hospitalized patients from 1992 through 2006: a population-based cohort study. *Clin Infect Dis*, 2011; 52: 61-9.
8. Sharma DK, Tiwari YK, Vyas N, Maheshwari RK. An investigation of the incidence of nosocomial infections among the patients admitted in the intensive care unit of a tertiary care hospital in Rajasthan. *Int J Curr Microbiol*, 2013; 2 (10): 428-35.
9. Fram D, Okuno MFP, Taminato M, Ponzio V, Manfredi SR, Grothe C, et al. Risk factors for bloodstream infection in patients at a Brazilian hemodialysis center: a case-control study. *BMC Infect Dis*. 2015; 15: 158.
10. Balıkcı A, Belas Z, Topkaya AE. Kan kültürü pozitifliği: etken ya da kontaminasyon mu? *Mikrobiyol Bul*, 2013; 47 (1): 135-40.
11. Yılmaz S, Gümral R, Güney M, Bedir O, Üsküdar Güçlü A, Duyan S, et al. İki yıllık dönemde kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *Gülhane Tıp Derg*, 2013; 55: 247-52.
12. Ulusan-Gündoğdu DZ, Çopur-Çiçek A, Mutlu MA, Koçyiğit S. Kan kültürlerinden izole edilen gram negatif çomaklar ve antibiyotik duyarlılıkları. *Eur J Health Sci*, 2015; 1 (2): 58-62.
13. Özkaya E, Tümer S, Kirişçi Ö, Çalışkan A, Erdoğan P. Son iki yılda Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Hastanesi'nde kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2015; 72 (2): 115-22.
14. Çopur-Çiçek A, Şentürk-Köksal Z, Ertürk A, Köksal E. Rize 82. Yıl Devlet Hastanesi'nde bir yıllık sürede kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2011; 68: 175-84.
15. Çetin F, Mumcuoğlu İ, Aksoy A, Gürkan Y, Aksu N. Kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiyal duyarlılıkları. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2014; 71 (2): 67-74.
16. Duman Y, Kuzucu Ç, Çuğlan SS. Kan Kültürlerinden izole edilen bakteriler ve antimikrobiyal duyarlılıkları. *Erciyes Med J*, 2011; 33: 189-96.
17. Ece G. Kan kültüründe üreyen izolatların dağılımı ve antibiyotik duyarlılık profilinin incelenmesi. *Haseki Tıp Bülteni*, 2013; DOI : 10.4274/Haseki.1044.
18. Uzun BK, Güngör S, Yurtsever SG, Afşar İ, Demirci M. Yoğun bakım hastalarının kan kültürlerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç durumları. *ANKEM*, 2012; 26 (2): 55-60.
19. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial blood stream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study BSI in US Hospitals. *Clin Infect Dis*, 2004; 39: 309-17.
20. Köksal F, Yasar H, Samasti M. Antibiotic resistance patterns of coagulase-negative staphylococcus strains isolated from blood cultures of septicemic patients in Turkey. *Microbiol Res*, 2009; 164: 404-10.

21. Anonymous. Ulusal Antimikrobiyal Direnç Surveyans Sistemi 2011 Yıllık Raporu. T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı, 2011, <http://uamds.thsk.gov.tr>, (Erişim Tarihi:01.04.2016)
22. Çetinkol Y, Çakır F, Enginyurt Ö. Kan kültürlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında metisiline direnç yıllara göre değişimi. ANKEM, 2013; 27 (1): 38-42.
23. Köksal F, Samastı M. Kan örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 2001;32: 187-92.
24. Trecarichi EM, Cauda R, Tumbarello M. Detecting risk and predicting patient mortality in patients with extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae bloodstream infections. Future Microbiol, 2012; 7 (10): 1173-89.
25. Beşirbellioğlu B. Dirençli gram-negatif bakteri sorunu. Yoğun Bakım Derg, 2010; (9) 4: 173-81.
26. Uyanık MH, Hancı H, Yazgı H, Karamişe M. Kan kültürlerinden soyutlanan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında GSBL sıklığı ve ertapenem dahil çeşitli antibiyotiklere in-vitro duyarlılıkları. ANKEM, 2010; 24 (2):86-91.
27. Karaayak Uzun B, Güngör S, Şerifhan İlgün M, Özdemir R, Baran N, Yüksel Ergin Ö. Kan kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve in-vitro antibiyotiklere direnç paternleri. ANKEM, 2012; 26 (4):181-6.
28. Köksal F, Sirekbasan S, Ak K, Küçükbasmacı Ö, Samastı M. Kan kültürlerinden izole edilen genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oluşturan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinin prevalansı ve antimikrobiyal direnç paternleri. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 2009; 39 (1-2): 31-35.
29. Şener A, Atay T, Gülay Z, Türker M. Çoklu dirençli *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinde siprofloksasin-amikasin, siprofloksasin-sefepim, seftazidim-amikasin, sefepim-amikasin kombinasyonlarının in-vitro sinerjistik etkinliklerinin araştırılması. ANKEM, 2003; 17 (4): 388-92.
30. Coşar M, Tuncer İ, Arslan U. Kan kültürlerinde üreyen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik direnç profili. Enfeksiyon Derg, 2009; 23 (2): 47-50.
31. Dündar D, Sönmez Tamer G. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal direnci: üç yıllık değerlendirme. Ankem, 2009; 23 (1): 17-21.
32. Gültekin E, Uyanık MH, Hancı H, Erdil Z, Gelen FN, Çelebi S. Kan kültürlerinden izole edilen nonfermentatif Gram negatif bakterilerin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları. ANKEM, 2014; 28 (3): 79-8.
33. Cesur S, Albayrak F, Birengel S, Kolcu Z, Tekeli E. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının karbapenem ve diğer beta laktam antibiyotiklere duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 2002; 32 (3-4): 203-6.
34. Ersöz G, Otağ F, Bayındır İ, Kandemir Ö, Aslan G, Kaya A. Nozokomiyal *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında antibiyotik direnci ve karbapenemlere dirençli suşlar için meropenemin MİK değerleri. ANKEM, 2004; 18 (1): 28-31.
35. Gazi H, Sürücüoğlu S, Kurutepe S, İnmez E, Dinç G, Özbakkaloğlu B. Yoğun bakım ünitesi ve diğer ünitelerde yatan hastalardan izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında in-vitro antibiyotik direnci. ANKEM, 2005; 19 (3):115-8.
36. Landman D, Bratu S, Kochar S, Panwar M, Trehan M, Doymaz M, et al. Evolution of antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, Ny. J Antimicrob Chemother, 2007; 60 (1):78-82.
37. Türk Dağı H, Arslan U, Tuncer İ. Kan kültürlerinden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında antibiyotik direnci. ANKEM, 2011; 25 (1): 22-6.
38. Gözütok F, Mutlu Sarıgül F, Çelik İ, Berk E, Aydın B, Güzel D. Hastane infeksiyonu etkeni *Acinetobacter baumannii* suşlarının antimikrobiyal direnç oranlarının araştırılması. ANKEM, 2013; 27 (1): 7-12.

The first case represented in Turkey; onychomycosis caused by *Chaetomium globosum* in an immunocompetent patient

Türkiye’de sunulan ilk vaka; immünokompetan hastada *Chaetomium globosum* türünün etken olduğu tırnak onikomikozu

Fatma ÖZAKKAŞ¹, Rabiye ALTINBAŞ¹, Hafize SAV¹, Mert Ahmet KUŞKUCU¹, Kenan MİDİLLİ¹, Nuri KİRAZ¹

ABSTRACT

It was reported as a case of distal subungual onychomycosis of the thumb of the right foot of a 25-year-old female patient in this article. Nail was examined in our laboratory and it was detected distal subungual onychomycosis. In direct microbiological examination septate hyphae was observed by using 20% KOH. Scraping of nail taken from patient was cultured on two Sabouraud’s Dextrose Agar with cycloheximide and without cycloheximide and it was kept at 25 °C for one week. After growth of fungal was detected slide cultures were prepared and brown-colored septated hyphae, perithecia, lemon-shaped ascospores were observed by light microscopy. The causative agent was identified as *Chaetomium globosum*. It was determined by using M38-A2 microdilution method, minimum inhibitory concentration values of, amphotericin B, fluconazole, itraconazole, miconazole, ketoconazole, flucytosine, voriconazole were determined as 4->64, 1-0.125, 0.125->64-0.5 µg/mL, respectively. Fluorocytosine and fluconazole were determined as resistant for *Chaetomium globosum* while miconazole and ketoconazole MIC values were determined as the best effective antifungal. The patient was treated

ÖZET

25 yaşındaki kadın hastanın sağ ayak başparmağındaki distal subungual onikomikoz rapor olarak sunuldu. Tırnak muayenesi laboratuvarımızda yapıldı ve hastada distal subungual onikomikoz saptandı. %20 KOH kullanılarak yapılan direkt mikroskopik incelemede; septalı hifler gözlemlendi. Hastadan alınan tırnak örnekleri siklohegzimitli ve siklohegzimitlessiz Sabouraud’s Dextrose Agara ekildi ve 25 °C’de, bir hafta bekletildi. Fungal büyüme saptandıktan sonra direkt preparat hazırlandı, kahverengi septalı hifler, perithecia, limon benzeri askosporlar görüldü. Etken sekanslama ve konvansiyonel yöntemle *Chaetomium globosum* olarak tanımlandı. M38-A2 yöntemi kullanılarak amfoterisin B, fluconazole, itraconazole, miconazole, ketoconazole, flucytosine, voriconazole MİK değerleri sırasıyla 4->64, 1-0, 125, 0,125->64, 0,5 µg/mL olarak belirlendi. *Chaetomium globosum* için fluorocytosine ve fluconazole dirençli olarak saptanırken miconazole ve ketoconazole MİK değerleri en etkili olarak saptandı. Hasta günlük (250 mg/gün) oral itraconazole ve amorolfın %5 tırnak cilası kullandı ve 12 haftada iyileşme kayıt edildi.

Anahtar Kelimeler: chaetomium, onikomikoz,

¹Istanbul University, Cerrahpasa Medical Faculty, Department of Microbiology, Istanbul



İletişim / Corresponding Author : Hafize SAV

Istanbul Üniversitesi, Cerrahpasa Tıp Fakültesi İstanbul - Türkiye

Tel : +90 505 388 76 84 E-posta / E-mail : hafize.sav@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 15.10.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 16.06.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.92979

Özakkaş F, Altınbaş R, Sav H, Kuşkucu MA, Midilli K, Kiraz N. The first Turkish case of onychomycosis caused by *Chaetomium globosum* in an immunocompetent patient. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(1): 71-78

by using oral itraconazole daily (250 mg /a day) and local application of amorolfine 5% nail lacquer was used and it was seen to heal in 12 weeks.

Key Words : chaetomium, onychomycosis, antifungal susceptibiltiy

antifungal duyarlılık

INTRODUCTION

Onychomycosis is a chronic fungal infections of toenail and fingernail. The most causative agents are observed as dermatophyte, yeast and nondermatophyte species. Several types of nondermatophyte mould such as *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Chaetomium* spp. may cause these infection (1, 2). The genus *Chaetomium*, which belongs to (family *Chaetomiaceae*, class *Sordariomycetes*, phylum *Ascomycota*), is dematiaceous nondermatophyte fungus that are commonly found in deteriorating wood products, soil and cellulosic substrates (3). Up to date, different authors reported variable taxonomic data about *Chaetomium* (4-6). *Chaetomium globosum* is the most observed species and these species produced the toxic chaetoglobosins A and C (7). The genus *Chaetomium* is the possible causative agents of fungal infections and selection of effective antifungal therapy is important for infected patients. Antifungal susceptibility test and minimal inhibitory concentration (MIC) values of these species have not been created yet. They reproduce with ascospores instead of conidia and therefore inoculum solution prepared by ascospores is more concentrated than the one prepared by conidia. Thus few modifications were made from reference microdilution method (8, 9).

Here we summarized mycological examination and antifungal treatment of onychomycosis caused by *C. globosum*. The identification of the causative fungus was defined by clinical findings, mycological examination and sequencing analysis of DNA.

CASE REPORT

A 25-year-old female presented with brownish-yellow discoloration on the right toenails. She was working in the textile company. Patient's history revealed that clinical symptoms began two years ago. Nail examination was examined in our laboratory. Distal subungual onychomycosis was detected (Figure 1). Complete blood count, protein electrophoresis, metabolic test (glucose, cholesterol, triglycerides) urinalysis, hepatic and renal function tests were within normal limits for patients and systemic diseases were not found. She had been not applied antifungal treatment for onychomycosis previously.

Mycological Examination

In direct microbiological examination, septate hyphae was observed by using %20 KOH. Scraping of nail was cultured on two Sabouraud's Dextrose Agar (SDA) with cycloheximide and without cycloheximide slants at 25 °C for one week. Growth of colony was observed in without cycloheximide slants. Initially, colour of colony appeared as velvety white but turned to dark gray and then brown (Figure 2). After growth of colony, slide cultures were prepared and stained with lactophenol cotton blue and brown-colored septated hyphae, lemon-shaped ascospores were observed by light microscopy (Figure 3). Perithecia appears as dark-brown to black, globose to ovoid (egg-shaped) opaque structures covered with thick hair-like hyphal filaments (Figure 4).



Figure 1. Distal subungual onychomycosis and brownish-yellow discoloration on the right toenails.

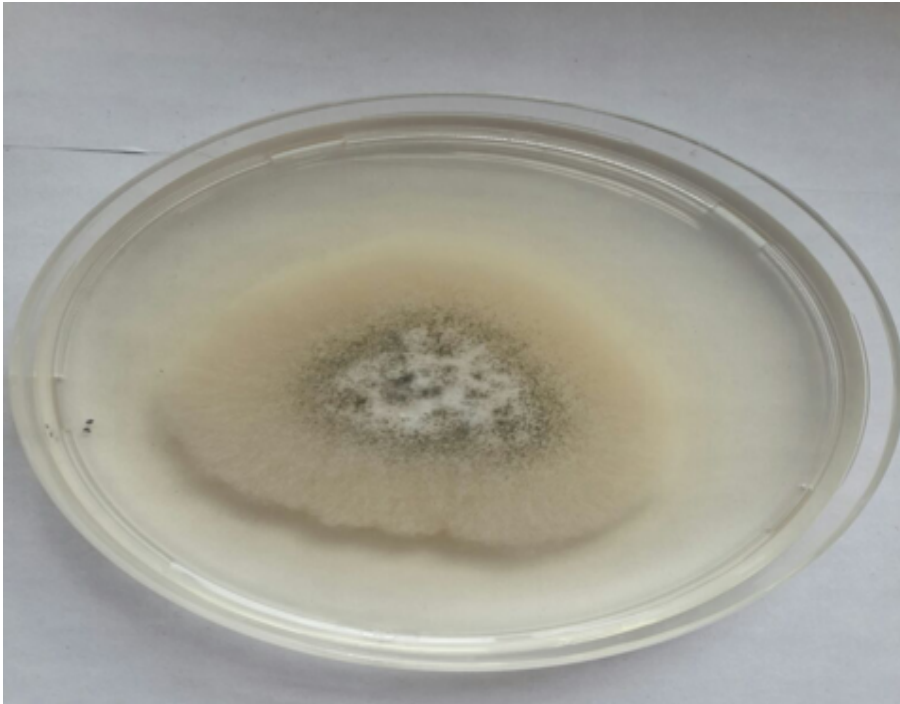


Figure 2. Dark gray to brown colony on Sabourauds Dextrose Agar.

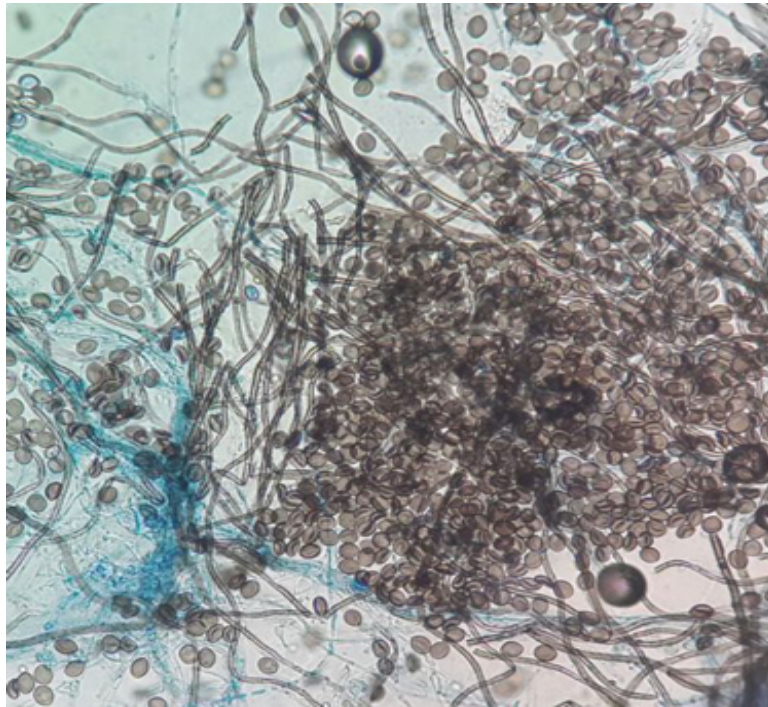


Figure 3. Brown-colored septated hyphae and, lemon shaped ascospores.

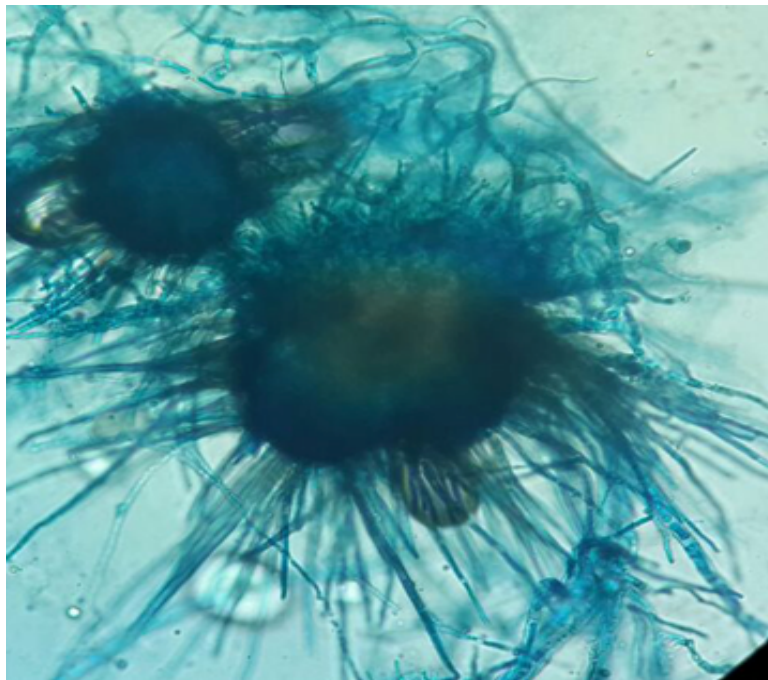


Figure 4. Dark brown to black, flask-shaped perithecia.

DNA Extraction, PCR Amplification, and Analysis of the ITS Region

Fungal DNA is amplified by using universal fungal primers (ITS1 and ITS4) by PCR described elsewhere (10). Positive PCR band is purified and sequenced bi-directionally. Obtained DNA sequences are edited, aligned and a consensus sequence is constructed. BLAST search is performed with obtained consensus sequence and maximum similarity is founded with *Chaetomium globosum*.

Antifungal Susceptibility Testing

Reference broth microdilution method performed according to M38-A2 document (11). Pure antifungal powders of known potency were supplied by the respective manufacturing companies (fluconazole, voriconazole (Pfizer, Istanbul, Turkey); amphotericin B, miconazole, flucytosine, ketoconazole, itraconazole (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA)). RPMI 1640 Medium (Sigma) with 0.2% glucose L-glutamine and without bicarbonate was employed. The inoculum was prepared by overlaying mature slants with sterile distilled water and gently scraping the surface with a wooden applicator stick. The suspension was permitted to sit for five minutes to allow large particles to settle out. Inocula of *C. globosum* were prepared with a hemocytometer. The minimum inhibitory concentrations (MICs) were read at 72 h. The final inocula were adjusted as 0.34×10^4 to 6.5×10^4 spores/mL in the microtiter plates. MIC values were determined for amphotericin B (4 µg/mL), fluconazole (>64 µg/mL), itraconazole (1 µg/mL), miconazole (0.125 µg/L), ketoconazole (0.125 µg/mL), flucytosine (>64 µg/mL), voriconazole (0.5 µg/mL). The most effective antifungal agents were found as miconazole (0.125 µg/mL) and ketoconazole (0.125 µg/mL). The patient was treated by using oral itraconazole (250 mg /a day) and local application of amorolfine 5% nail lacquer was used and it was seen to heal in 12 weeks.

DISCUSSION

In this report we discussed mycological examination and antifungal treatment of onychomycosis stemming from *C. globosum*. These species produce chaetoglobosins A and C and mycotoxin exposure may be associated with cutaneous, subcutaneous, and opportunistic fungal infection (7). Until today, author reported a small number of onychomycosis caused by *C. globosum* in adult patients (12-16). Among these cases only one mixed toenail infection caused by *C. Globosum* and *Trichophyton mentagrophytes* was reported (17). In all cases, male patients were found to be more affected than female patients. In this case, onychomycosis occurred in a female patients toenail.

Clinical presentation of onychomycosis resulting from *C. globosum* is often nonspecific. Since this fungi is believed as common laboratory contaminants, it is difficult to recognize between the pathogen and the contaminant. If their characteristic images are seen in microscopic examination and the same strain is identified on repeated cultures, they can be considered as a pathogen of onychomycosis. In addition to phenotypic identification, DNA sequence analysis is useful in corroborating the diagnosis in difficult cases of onychomycosis (13). In our case, more or less flask-shaped, mostly ostiolate (perithecia) fruit body, ascospores and hyphae were seen in microscopic examination and fungal growth was observed in three different cultures. Mycological examination and DNA sequence analysis were used for *C. globosum* identification. For molecular biologic analysis, it was compared to the base sequence of *C. globosum* strain KM579606, which was stored in GenBank, using the Blast program and the result was 100% matched (Figure 5).

ITS1-4

```

ATTGTGACGTTACCTATAACCGTTGCTTCGGCGGGCGGCCCGGGTTTACCCCC
GGGCGCCCCTGGGCCCCACCGCGGGCGCCGCGGAGGTCACCAAACCTTTGATA
ATTTATGGCCTCTCTGAGTCTTCTGTAAGTAAAGTCAAACTTTCAACAACGGA
TCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAA
TTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGCAT
TCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTCAACCATCAAGCCCCGGGCTTGT
GTTGGGGACCTGCGGCTGCCGAGGCCCTGAAAAGCAGTGGCGGGCTCGCTGTC
GCACCGAGCGTAGTAGCATAACATCTCGCTCTGGTTCGCGCCGCGGGTTCCGGCCGT
TAAACCACCTTTT

```

Figure 5. Sequences producing significant alignments.

Onychomycosis is classified as different clinical types for etiological agent and treatment (18). In this case, clinical form was detected as distal subungual onychomycosis. We observed brownish discoloration without periungual inflammation in dermatological examination.

Eradication of onychomycosis caused by non dermatophyte mold is difficult and time consuming. Because these molds don't respond well to antifungal treatment and antifungal susceptibility of these species is not well established. Our information about the antifungal susceptibility of *Chaetomium* is limited. Serena et al., (9) investigated antifungal susceptibilities of *Chaetomium* and they reported that in vitro activities of ravuconazole, voriconazole, albaconazole were obtained as good, but micafungin was not. Guarro et al., (19) tested the activities of six antifungal agents against clinical and environmental strains of *Chaetomium* spp. fluorocytosine and fluconazole were determined as resistant for all strains and the best effective antifungal was determined as itraconazole. Similarly, in our study

MIC values of fluorocytosine and fluconazole were found as resistant. The best fungal activities were determined as miconazole (0.125 µg/mL) and ketoconazole (0.125µg/mL).

In literature, successful treatment was reported by using itraconazole and terbinafine (13,16). The Food and Drug administration (FDA) approve treatment regimen for toenails is itraconazole 200 mg per day for 3 month (20). Itraconazole MIC value was determined as (1 µg/mL) in our antifungal susceptibility study. Clinician administered oral itraconazole (250 mg /a day) and local application of amorolfine 5% nail lacquer. As a result, the patient was completely cured as clinically and mycologically.

In conclusion, we report the onychomycosis caused by *C. globosum* in an immunocompetent patient which was confirmed by mycological examination and molecular analysis. Antifungal susceptibility was performed and the most effective agent was determined as ketoconazole and miconazole, but clinical recovery was provided by using itraconazole.

ACKNOWLEDGEMENTS

Case was presented as poster at 7 th Trends in Medical Mycology Congress, Lisbon-Portugal, 9-12 October, 2015.

KAYNAKLAR

1. Fernández MS, Rojas FD, Cattana ME, Sosa Mde L, Mangiaterra ML, Giusiano GE. *Aspergillus terreus* complex: an emergent opportunistic agent of Onychomycosis. *Mycoses*,2013; 56 (4): 477-81.
2. Hwang SM, Suh MK, Ha GY. Onychomycosis due to nondermatophytic molds. *Ann Dermatol* ,2012; 24 (2): 175-80.
3. Cuomo CA, Untereiner WA, Li-Jun Ma, Grabherr M, Birren BW. Draft genome sequence of the cellulolytic fungus *Chaetomium globosum*. *Genome Announc*, 2015; 26; 3(1): pii:e00021-15.
4. Udagawa S, Muroi T, Kurata H, Sekita S, Yoshihira K, Natori S, et al. The production of chaetoglobosins, sterigmatocystin, omethylsterigmatocystin, and chaetocin by *Chaetomium* spp. and related fungi. *Can J Microbiol*, 1979; 25 (2): 170-7.
5. Kane J, Summerbell R, Sigler L, Krajdén S, Land J. *Laboratory Handbook of Dermatophytes*. 9th, USA: Star Publishing Company, 1997.
6. Samson RA, Houbraken J, Thrane U, Frisvad JC, Andersen B. *Food and Indoor Fungi*. Netherlands: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2010.
7. Nielsen KF, Gravesen S, Nielsen PA, Andersen B, Thrane U, Frisvad JC. Production of mycotoxins on artificially and naturally infested building materials. *Mycopathologia*, 1999;145(1):43-56.
8. de Hoog GS, Guarro J, Figueras MJ. *Atlas of Clinical Fungi: The Ultimate Benchmark for Diagnostics*. 4th. Netherlands: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2015.
9. Serena C, Ortoneda M, Capilla J, Pastor FJ, Sutton DA, Rinaldi MG, et al. In vitro activities of new antifungal agents against *Chaetomium* spp. and inoculum standardization. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003; 47 (10): 3161-4.
10. Lindsley MD, Hurst SF, Iqbal NJ, Morrison CJ. Rapid identification of dimorphic and yeast-like fungal pathogens using specific DNA probes. *J Clin Microbiol*, 2001; 39 (10): 3505-11.
11. Anonymous. *Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi*. CLSI Document M38-A2. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2008.
12. Falcón CS, Falcón Ma del Mar S, Ceballos JD, Florencio VD, Erchiga VC, Ortega SS. Onychomycosis by *Chaetomium* spp. *Mycoses*, 2009; 52 (1): 77-9.
13. Kim DM, Lee MH, Suh MK, Ha GY, Kim H, Choi JS. Onychomycosis caused by *Chaetomium globosum*. *Ann Dermatol*, 2013; 25 (2): 232-6.
14. Aspiroz C, Gené J, Rezusta A, Charlez L, Summerbell RC. First Spanish case of onychomycosis caused by *Chaetomium globosum*. *Med Mycol*, 2007; 45 (3): 279-82.
15. Stiller MJ, Rosenthal S, Summerbell RC, Pollack J, Chan A Onychomycosis of the toenails caused by *Chaetomium globosum*. *J Am Acad Dermatol*, 1992; 26 (5 Pt 1): 775-6.
16. Hattori N, Adachi M, Kaneko T, Shimozuma M, Ichinohe M, Iozumi K. Case report. Onychomycosis due to *Chaetomium globosum* successfully treated with itraconazole. *Mycoses*, 2000; 43(1-2): 89-92.

17. Lagacé J, Cellier E. A case report of a mixed *Chaetomium globosum*/trichophyton mentagrophytes onychomycosis. *Med Mycol Case Rep*, 2012; 16; 1(1): 76-8.
18. Hay RJ, Baran R. Onychomycosis: a proposed revision of the clinical classification. *J Am Acad Dermatol*, 2011; 65 (6): 1219-27.
19. Guarro J, Soler L, Rinaldi MG. Pathogenicity and antifungal susceptibility of *Chaetomium* species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1995;14 (7): 613-8.
20. Finch JJ, Warshaw EM. Toenail onychomycosis: current and future treatment options. *Dermatol Ther*, 2007; 20 (1): 31-46.

Akut lenfoblastik lösemi tanısıyla tedavi edilen hastada gelişen kateter ilişkili *Ochrobactrum antropi* bakteriyemisi

Catheter related *Ochrobacturm antropi* bacteraemia developed in patient with acute lymphoblastic leukemia who is taking chemotherapy

Güliz DOĞAN¹, Nisel YILMAZ¹, Neval AĞUŞ¹, Fatma Burcu BELEN², Barış MALBORA³, Pınar ŞAMLIOĞLU¹, Sevgi YILMAZ-HANCI¹, Yeşer KARACA-DERİCİ¹, Mümtaz Cem ŞİRİN¹, Arzu BAYRAM¹

ÖZET

Sunulan olgu, pre-B hücreli ALL (akut lenfoblastik lösemi) tanısıyla kemoterapi alan dört yaşındaki kız çocukta gelişen kateter ilişkili *Ochrobactrum antropi* (*O. antropi*) bakteriyemisidir. Hastaya kemoterapi öncesi kateter takılmıştır. Verilen kemoterapiden sonra 38,5 °C ateşi başlayan hastaya nötropenik ateş tanısı konmuş, eş zamanlı olarak periferden ve kateterden kan kültürü alınmıştır. Birinci, ikinci ve dördüncü gün kateterden alınan kan kültürlerinde (BacT/ALERT 3D, bioMerieux, Fransa) üreme saptanırken, aynı günlerde eş zamanlı olarak periferden alınan kan kültürlerinde üreme olmamıştır. Bakterinin tanımlanması, eş zamanlı olarak VITEK 2 (bioMerieux, Fransa) ve BD Phoenix 100 (Becton Dickinson, USA) otomatize sistemleriyle yapılmış ve *O. antropi* tespit edilmiştir. Kültür antibiyogramında imipenem ve meropenem duyarlı; sefepim, piperasilin-tazobaktam, sefoperazon-sulbaktam, amikasin, trimetoprim-sulfametoksazol, siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin dirençli saptanmıştır. Hastadan beşinci ve altıncı gün alınan kateter kültürlerinde üreme saptanmamıştır. *O. antropi*'nin özellikle immün sistemi baskılı hastalarda kateterle ilişkili enfeksiyonlarda etken olabileceği akla getirilmelidir.

Anahtar Kelimeler: akut lenfoblastik lösemi, *Ochrobactrum antropi*, kateter ilişkili bakteriyemi

ABSTRACT

It was reported on the case history of catheter related *Ochrobacturm antropi* (*O. antropi*) bacteraemia developed in four years old girl with pre-B cell ALL (acute lymphoblastic leukemia) who is taking chemotherapy. At the start of chemotherapy babyport (portacath) was implanted. The patient who had 38.5 °C fever after block chemotherapy was diagnosed as neutropenic fever and simultaneously peripheral and catheter blood cultures (BacT/ALERT 3D, bioMerieux, France) were taken. The first, second and fourth days of blood cultures taken from catheter were positive, whereas peripheral blood cultures were negative simultaneously. VITEK 2 (bioMerieux, France) and BD Phoenix 100 (Becton Dickinson, USA) automated systems were used to identification of bacteria, and *O. antropi* was identified. The isolate was susceptible to imipenem and meropenem, and resistant to cefepime, piperacillin-tazobactam, cefoperazon-sulbactam, amikacin, trimethoprim-sulfamethoxazole, ciprofloxacin, ofloxacin, levofloxacin. The cultures were negative on the fifth and sixth days of therapy therefore the catheter was not removed. *O. antropi* should be considered as agent pathogen with catheter related infection especially in the immuno compromised patients.

Key Words: acut lymphoblastic leukemia, *Ochrobactrum antropi*, catheter related bacteraemia

* Bu olgu sunumu; 3.Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi'nde (18-22 Kasım 2015, Antalya) poster bildirisi olarak sunulmuştur.

¹Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir

²Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Hematoloji Onkoloji Bilim Dalı, İzmir

³Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Hematoloji Onkoloji Bilim Dalı, İzmir



İletişim / Corresponding Author : Güliz DOĞAN

Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı İzmir - Türkiye

Tel : +90 505 525 15 30

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

Geliş Tarihi / Received : 27.04.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 01.08.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.44712

Doğan G, Yılmaz N, Ağuş N, Belen FB, Malbora B, Şamlıoğlu P, Tılmaz-Hancı S, Karaca-Derici Y, Şirin MC, Bayram A. Akut lenfoblastik lösemi tanısıyla tedavi edilen hastada gelişen kateter ilişkili *Ochrobactrum antropi* bakteriyemisi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(1): 79-82

GİRİŞ

Önceleri “*Achromobacter* ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) grup Vd-1 ve Vd-2” içinde yer alan *Ochrobacterium* spp., günümüzde *Mycoplana* ve *Brucella* ile birlikte *Brucellaceae* ailesinde yer almaktadır (1, 2). *Ochrobacterium* spp. birçok türden oluşmakla birlikte, *Ochrobacterium antropi*, *O. intermedium*, *O. pseudintermedium* olmak üzere üç türü insanlarda klinik örneklerden soyutlanmıştır (3). *O. antropi* aerobik, Gram-negatif, hareketli, oksidaz-pozitif, üreaz pozitif, non-fermantatif çevresel bir basildir (4).

O. antropi; sağlıklı kişilerden çok, kronik hastalıkları olan, maligniteli, immün sistemi baskılanmış kişilerde enfeksiyon etkeni olmaktadır. İnsanlarda oluşturduğu ilk enfeksiyon pankreatik abse olgusu olarak 1980 yılında sunulmuştur (5). Bunun sonrasında, kateter ilişkili enfeksiyonlar buna bağlı bakteriyemi ve sepsis şeklinde birçok olgu sunulmuştur (6, 7).

OLGU SUNUMU

Sunulan olgu, pre-B hücreli ALL tanısıyla, blok kemoterapi (deksametazon, yüksek doz ARA-C, etoposid, L-asparajinaz) tedavisi alan dört yaşındaki kız çocukta gelişen kateter ilişkili *O. antropi* bakteriyemisidir. Hastaya kemoterapi başlanmadan önce kateter takılmıştır. Verilen kemoterapiden sonra 38,5 °C ateşi başlayan hastaya nötropenik ateş tanısı konmuş, eş zamanlı olarak periferden ve kateterden kan kültürü alınmıştır. Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen kan kültür şişeleri kan kültür cihazına (BacT/ALERT 3D, bioMerieux, Fransa) konulmuştur. Birinci, ikinci ve dördüncü gün kateterden alınan kan kültürlerinde (BacT/ALERT 3D, bioMerieux, Fransa) üreme saptanırken, aynı günlerde eş zamanlı olarak periferden alınan kan kültürlerinde üreme olmamıştır. Üreyen bakteriye Gram boyalı bakı yapılmış, Gram negatif basil görülmüştür. Ayrıca yapılan manuel

testlerle katalaz pozitif, oksidaz negatif bulunmuştur. Bakterinin tanımlanmasını eş zamanlı olarak VITEK 2 (bioMerieux, Fransa) ve BD Phoenix 100 (Becton Dickinson, USA) otomatize sistemleriyle yapılmıştır. Her iki cihazda da *O. antropi* tespit edilmiştir. Antibiyotik duyarlılığı Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle CLSI kriterlerine göre belirlenmiştir (8). Kültür antibiyogramında imipenem ve meropenem duyarlı; sefepim, piperasilin-tazobaktam (TZP), sefoperazon-sulbaktam (SCF), amikasin, trimetoprim-sulfometaksazole (SXT), siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin dirençli saptanmıştır. Hastanın ateşi 48 saat sonra düşmüş ve tekrar etmemiştir. Hastadan beşinci ve altıncı gün kateterden alınan kan kültürlerinde üreme saptanmamıştır.

SONUÇLAR

O. antropi'nin kolonize olduğu çevreler çok çeşitli olup; toprakta, bitkilerde, nematotlarda, böceklerde, hayvanlarda ve insanlarda bulunabilmektedir (9). Genellikle immün sistemi baskılanmış kişilerde fırsatçı enfeksiyon etkeni olarak karşımıza çıkmakta olup, nadiren sağlıklı kişilerde de etken olduğu bildirilmiştir (10).

Enfeksiyonun oluşumunda, santral venöz, drenaj veya intraperitoneal kateterler gibi vücut içi araçlar kaynak olabilmektedir. Burada bakteriyle kolonize/kontamine olmuş kateter kaynak olabileceği gibi, steril kateter dışarıdan damar içine kontaminasyon açısından yol da oluşturabilmektedir. Yapılan *in vitro* çalışmalarda, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*'e benzer olarak *O. antropi*'nin de silikona adhere olabilme özelliği olduğu ve buna bağlı olarak kateter ilişkili enfeksiyonlarda rol oynayabileceği gösterilmiştir (11). Vücut içi araçlar dışında enfeksiyon açısından farklı kaynaklarda bildirilmiş olup, Menezes ve ark., (10); ortaya çıkan enfeksiyonda intestinal sistem florasında bulunan bakterinin cerrahi girişim

sonrasında kaynak oluşturduğu sonucuna varmışlardır. Buna benzer olarak Wi ve ark., (11); *O. antropi*'nin yaptığı spontan bakteriyel peritonitin kaynağı olarak yine intestinal floradaki bakteriyi düşünmüşlerdir.

O. antropi en sık kateter ilişkili enfeksiyonlar ve bakteriyemi yapmakla birlikte; peritonit, enfektif endokardit, osteomyelit, artrit, menenjit, endoftalmit gibi başka enfeksiyonlara da yol açtığı gösterilmiştir (11-15).

Sunduğumuz olgu; kemoterapi nedeniyle immün sistemi baskılanmış çocukta gelişen kateter ilişkili bakteriyemidir. Ülkemizde yapılan ve *O. antropi*'yi enfeksiyon etkeni olarak bildiren başka çalışmalar da olup, Alparlan ve ark.'nın (16) sunduğu kronik periton diyalizi olan pediatrik hastada gelişen peritonit; Sipahi ve ark.'nın (17) sunduğu tümör nedeniyle kolanjiyopankreatografi sonrası 89 yaşındaki hastada gelişen bakteriyemi, Cenkçi ve ark.'nın (18) sunduğu önceden sağlıklı olan, pnömoni nedeniyle mekanik ventilasyon desteği alan pediatrik hastada gelişen bakteriyemi örnek olarak gösterilir.

O. antropi'nin virülansının düşük olduğu, enfeksiyonların iyileşmeyle sonuçlandığı, mortalite ortaya çıkmışsa da bunun altta yatan hastalıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir (7). Yapılan bir çalışmada, *O. antropi*'nin karbapenem dışı beta laktamlar, gentamisin, siprofloksasin, levofloksasin ve SXT'ye dirençli bulunmasına karşın; oral sefalosporinle iyileşmiş olması bakterinin düşük virülansıyla açıklanmıştır (6).

O. antropi'nin bazı bakterilerle olan yakın fenotipik ilişkisi, yanlış tanımlanmasına neden olabilmektedir. Yapılan başka bir çalışmada, *Brucella* spp. ile aynı ailede yer alması nedeniyle önce *Brucella* spp. olarak tanımlanmıştır (2). Başka bir

çalışmada, kan kültüründen soyutlanan bakteriyi ticari otomasyon sisteminde %99,9 uyum oranıyla *Ralstonia paucula* olarak tespit edilmiştir. Sonrasında farklı merkezde 16S rRNA gen sekansı yapılmış, *O. antropi* olduğu bulunmuştur (6).

O. antropi için etkin tedavi protokolü henüz yoktur (10). Aminoglikozit, karbapenem, SXT, florokinolon ve sulfanamidler duyarlı; karbapenem dışı beta laktamlar, kloramfenikol ve makrolidlere dirençli kabul edilir (4, 10). Karbapenem dışı beta laktamlara dirençten, kromozomal kökenli, indüklenebilir, klavulanik asit inhibisyonuna dirençli AmpC beta laktamaz OCH-1 enziminin sorumlu olduğu gösterilmiştir (19). Thoma ve ark.'nın (20) 103 *Ochrobactrum* spp. üzerine yaptığı çalışmada; beta laktamlara dirençli, siprofloksasin ve SXT'ye duyarlı saptamışlar, amprik tedavide siprofloksasin-SXT kombinasyonunun başarılı olacağı sonucuna varmışlardır. Buna karşılık, Hagiya ve ark.'nın (6) yaptığı çalışmada, karbapenem dışı beta laktamların bir çoğuna, gentamisine, siprofloksasine, levofloksasine ve SXT'ye dirençli bulmuşlardır. Çalışmamızda da benzer olarak imipenem ve meropenem duyarlı; sefepim, amikasin, TZP, SCF, SXT, siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin dirençli saptanmıştır.

Sonuç olarak, *O. antropi*'nin özellikle immün sistemi baskılı hastalarda gelişen kateter ilişkili enfeksiyonlarda etken olabileceği akla gelmeli, her ne kadar virülansı düşük olarak tanımlanmış olsa da uygun antibiyotik tedavisi başlanmalıdır. Ayrıca, *O. antropi* için henüz kabul görmüş bir tedavi protokolü olmadığından, uygulanacak antibiyotik tedavisi kombinasyonunun geniş spektrumlu olmasının daha iyi bir seçim olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Bruckner DA, Colonna P. Nomenclature for aerobic and facultative bacteria. *Clin Infect Dis*, 1995; 21 (2): 263-72.
2. Horvat RT, El Atrouni W, Hammoud K, Hawkinson D, Cowden S. Ribosomal RNA sequence analysis of *Brucella* infection misidentified as *Ochrobactrum anthropi* infection. *J Clin Microbiol*, 2011;49 (3):1165-8. DOI: 10.1128/JCM.01131-10.
3. Kämpfer P, Citron DM, Goldstein EJC, Scholz HC. Difficulty in the identification and differentiation of clinically relevant *Ochrobactrum* species. *J Med Microbiol*, 2007; 56 (Pt 11):1571-3. DOI:10.1099/jmm.0.47350-0.
4. Washington Winn Jr, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, et al. The nonfermentative Gram-Negative Bacilli. In: Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Washington Winn Jr, eds. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, 2006:345.
5. Appelbaum PC, Campbell DB. Pancreatic abscess associated with *Achromobacter* group Vd biovar 1. *J Clin Microbiol*, 1980; 12 (2): 282-3.
6. Hagiya H, Ohnishi K, Maki M, Watanabe N, Murase T. Clinical characteristics of *Ochrobactrum anthropi* bacteremia. *J Clin Microbiol*, 2013; 51 (4): 1330-3.
7. Yu WL, Lin CW, Wang DY. Clinical and microbiologic characteristics of *Ochrobactrum anthropi* bacteremia. *J Formos Med Assoc*, 1998; 97 (2):106-12.
8. Anonymous. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M100-S25. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 25th informational supplement. USA: CLSI, Wayne, PA, 2015.
9. Romano S, Aujoulat F, Jumas-Bilak E, Masnou A, Jeannot JL, Falsen E, et al. Multilocus sequence typing supports the hypothesis that *Ochrobactrum anthropi* displays a human-associated subpopulation. *BMC Microbiol*, 2009; 18: 9:267. DOI:10.1186/1471-2180-9-267.
10. Menezes FG, Abreu MG, Kawagoe JY, Warth AN, Deutsch AD, Dornaus MF, et al. *Ochrobactrum anthropi* bacteremia in a preterm infant with cystic fibrosis. *Braz J Microbiol*, 2014; 45(2): 559-61.
11. Wi YM, Sohn KM, Rhee JY, Oh WS, Peck KR, Lee NY, et al. Spontaneous bacterial peritonitis due to *Ochrobactrum anthropi*: a case report. *J Korean Med Sci*, 2007; 22 (2): 377-9.
12. Romero Gómez MP, Peinado Esteban AM, Sobrino Daza JA, Sáez Nieto JA, Alvarez D, Peña García P. Prosthetic mitral valve endocarditis due to *Ochrobactrum anthropi*: case report. *J Clin Microbiol*, 2004; 42 (7): 3371-3.
13. When L, Taylor S, Godfrey K. Vertebral osteomyelitis due to *Ochrobactrum anthropi*. *Intern Med J*, 2002;32 (8): 426-8.
14. Christenson JC, Pavia AT, Seskin K, Brockmeyer D, Korgenski EK, Jenkins E, et al. Meningitis due to *Ochrobactrum anthropi*: an emerging nosocomial pathogen. A report of 3 cases. *Pediatr Neurosurg*, 1997; 27 (4): 218-21.
15. Mattos FB, Saraiva FP, Angotti-Neto H, Passos AF. Outbreak of *Ochrobactrum anthropi* endophthalmitis following cataract surgery. *J Hosp Infect*, 2013; 83 (4): 337-40.
16. Alparslan C, Yavascan O, Kose E, Sanlioglu P, Aksu N. An opportunistic pathogen in a peritoneal dialysis patient: *Ochrobactrum anthropi*. *Indian J Pediatr*, 2013; 80 (1): 72-4.
17. Sipahi OR, Çalık Ş, Mazharoğulları K, Aydemir Ş, Yamazhan T, Tekeşin O. *Ochrobactrum anthropi* bacteremia developed after cholangiopancreatography. *Mikrobiyol Bul*, 2007; 41: 469-72.
18. Cenkçi K, Can FK, Can E, Hancı SY, Anıl AB, Anıl M. Önceden sağlıklı bir çocukta *Ochrobactrum anthropi* bakteremisi ve pnömoni. *CAYD*, 2015; 2 (3): 137-40.
19. Nadjar D, Labia R, Cerceau C, Bizet C, Philippon A, Arlet G. Molecular characterization of chromosomal class C beta-lactamase and its regulatory gene in *Ochrobactrum anthropi*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001; 45 (8): 2324-30.
20. Thoma B, Straube E, Scholz HC, Al Dahouk S, Zöller L, Pfeffer M, et al. Identification and antimicrobial susceptibilities of *Ochrobactrum* spp. *Int J Med Microbiol*, 2009; 299 (3): 209-20.

TS EN ISO/IEC 17025 standardı kapsamında yapılan laboratuvar denetim bulgularının değerlendirilmesi

Evaluation of audit findings performed in laboratories according to TS EN ISO/IEC 17025 Standard

Edibe Nurzen BOZKURT¹, Göktuğ BAYRAM¹, Ferda GÜLTOP¹, Uğur TOPCU¹, Nesrin GEVREK¹

ÖZET

Laboratuvarlar; günümüz teknolojik koşullarına uygun olarak güvenilir, doğru ve zamanında sonuç vermeye odaklı hizmet sunmalıdır. Kalite çalışmaları Deney ve Kalibrasyon laboratuvarları için bir gereklilik olup TS EN ISO/IEC 17025 "Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği için Genel Şartlar" Standardı bu alanda yetkinlik anlamına gelmektedir. Kalite Yönetim Sistemi (KYS) dokümantasyonunda ve/veya standartlarda tanımlanmış uygulamalar ve faaliyetleri yerine getirememek "uygunsuzluk" olarak tanımlanmaktadır. TS EN ISO/IEC 17025 standardına göre TÜRKAK (Türk Akreditasyon Kurumu) tarafından yerine getirilen akreditasyon denetimleri ve bunun yanında iç tetkik faaliyetlerinde belirlenen bulgular eşliğinde aksaklıkların giderilmesi kalite yönetim sisteminin sürekliliği ve iyileştirilmesi için çok önemlidir. Genel olarak yapılan denetimler incelendiğinde; kalite yönetim sistemi kurulduktan sonra ilk denetim sırasında saptanan büyük (majör) ve küçük (minör) uygunsuzluklar ile daha sonraki denetimlerdeki uygunsuzluklar farklılık göstermektedir. Sistem kurulup işlemeye başladıktan sonra büyük uygunsuzlukların azalmakta, küçük uygunsuzlukların ise artmakta olduğu fakat yapılacak düzeltici faaliyetlerle giderilebileceği görülmektedir.

ABSTRACT

Laboratories should provide services focused on reliable, accurate and timely results in accordance with the present technological conditions. As quality work is a requirement for laboratories, TS EN ISO/IEC 17025 "General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories" standard means competence in this field. That when practices and activities described in quality management system (QMS) documentation and/or standards are not fulfilled is defined as "Non-Conformity". It is very important to eliminate problems due to findings obtained from the audits performed by TURKAK according to TS EN ISO/IEC 17025 and also internal audits for continuity and improving the quality management system. When overall audits examined; major and minor non-conformities identified in first audit, just after establishment of quality management system, differ from the ones in next audits. After the system operates, major non-conformities decrease and minor non-conformities increase but these can be eliminated by corrective actions. Requirements for the accreditation of the experimental/calibration laboratory are defined in TS EN ISO/IEC

¹Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Halk Sağlığı Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Edibe Nurzen BOZKURT

Halk Sağlığı Laboratuvarları Daire Başkanlığı Sağlık Mah. A. Saygun Cad. No: 55 Sıhhiye 06100
Ankara - Türkiye Tel : +90 532 558 63 11 E-posta / E-mail : edibe.bozkurt@thsk.gov.tr

Geliş Tarihi / Received : 21.12.2015
Kabul Tarihi / Accepted : 01.08.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.04557

Bozkurt EN, Bayram G, Gültop F, Topcu U, Gevrek N. TS EN ISO/IEC 17025 standardı kapsamında yapılan laboratuvar denetim bulgularının değerlendirilmesi
Türk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(1): 83-94

Deney/kalibrasyon laboratuvarlarının akreditasyonu için gereklilikler, TS EN ISO/IEC 17025 standardında tanımlanmış olup rutin olarak gerçekleştirilen akreditasyon denetimleri de bu standartta belirtilen şartlara göre gerçekleştirilmektedir. Bu standarda göre uyulması gereken şartlar, 4. Madde “Yönetim Şartları” ve 5. Madde “Teknik Şartlar” başlıkları altındaki bölümlerde belirtilmektedir. Bu raporda, laboratuvar denetimlerinde saptanan bulgular derlenerek hangi alanlarda yoğunlaştığı belirlenmeye çalışılmıştır. Denetimlerde özellikle standardın yönetim şartlarından Madde 4.1, 4.3, 4.7, 4.11 ve teknik şartlarından 5.2, 5.4, 5.5 ve 5.10 maddelerinde laboratuvarların eksiklikleri olduğu, bu konularda sıkıntılar yaşandığı görülmektedir. Bu maddeler kuruluş, doküman kontrolü, müşteriye hizmet ve iyileştirme gibi sistemin temel koşulları ile personel, metodun geçerli kılınması, cihazlar ve raporlandırma gibi sistemin uygulanmasını sağlayan unsurlardır. TS EN ISO/IEC 17025 standardı kapsamında gerçekleştirilen akreditasyon denetimleri sonrasında belirlenen ortak uygunsuzlukların ve saptamaların, bu konuda faaliyet yürüten akredite veya akredite olacak benzer laboratuvarlara fayda sağlayacağı, yönlendirici olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: akreditasyon, laboratuvar, kalite

17025 standard and routinely applied accreditation audits are performed according to specified conditions in this standard. The terms and conditions to be fulfilled according to this standard is described in the section under the heading of 4. Article “management requirements” and 5. Article “technical requirements”. In this report, the findings identified in the laboratory audit by compiling, it has been tried to be determined in which areas it concentrates. Especially, it is seen that laboratories have deficiencies, experiencing difficulties on these matters which of the Standard in clause 4.1, 4.3, 4.7, 4.11 of management requirements and in clause 5.2, 5.4, 5.5, 5.10 of technical requirements, in the audits. These clauses are the basic conditions of the system such as; organization, document control, service to the customer, and corrective action provides the implementation of the system personnel, validation of methods, the equipment and reporting the results. Common non-conformities and determinations detected after accreditation audits performed with the scope of TS EN ISO/IEC 17025 Standard are considered to be a beneficial and to give guidance for accredited or will be accredited identical laboratories.

Key Words: accreditation, quality, laboratory

GİRİŞ

Sağlığın korunması, geliştirilmesi ve sürdürülebilmesi kapsamında laboratuvarların günümüz teknolojisine uygun olarak etkin ve verimli hizmet vermesi, gelişen ülkemizde sistem ve kalite alanında yapılan çalışmaları daha da zorunlu hale getirmektedir. Kalite alanında uzmanlaşmak anlamına gelen akreditasyon, laboratuvarlar için vazgeçilmezdir. TS EN ISO/IEC 17025 “Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği için Genel Şartlar” standardına göre akredite olacak laboratuvarların; yönetim, organizasyon, yerleşim ve teknik şartları yerine getirmeleri bir zorunluluktur.

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu bünyesinde yer alan 83

halk sağlığı laboratuvarı (HSL), ülke genelinde analiz hizmeti vermektedir. Bu laboratuvarlar, L1 ve L2 hizmet tipi HSL olarak gruplandırılmaktadır. L1 hizmet tipi halk sağlığı laboratuvarı, TS EN ISO/IEC 17025 standardına göre akredite olan, ilgili mevzuat kapsamında kurumca belirlenen klinik ve klinik dışı analizleri gerçekleştiren ve bölgesindeki L2 hizmet tipi laboratuvarlara analiz, eğitim ve danışmanlık hizmetleri sunan laboratuvardır. L2 hizmet tipi halk sağlığı laboratuvarı, kurumun planlaması ve izni dahilinde ilgili mevzuat kapsamında kurumca belirlenen klinik ve klinik dışı analizleri gerçekleştiren laboratuvardır (Şekil 1) (1).



Şekil 1. Akredite olan L1 ve L2 hizmet tipi HSL'lerin Dağılımı (1)

Standartlara göre altyapının oluşturulması, yönetimin gerekli desteği sağlaması, kalite dokümantasyonunun yapılması, sistemin uygulanması, çalışma kapsamına yönelik kalite kontrol çalışmaları, sistemin denetlenmesi, belirlenen sorunların çözülmesi ve tüm sistemin genel olarak değerlendirilmesi ile sistem ve standart gereklilikleri yerine getirilir. Sonuçta, yönetim ve teknik şartlar sağlanarak akreditasyon süreci gerçekleştirilir. TS EN ISO 9001 ve TS EN ISO/IEC 17025 vb. kalite sistemleri, gereklilikler açısından ortaklık göstermektedir (2, 3).

Akreditasyon değerlendirmelerinde; sistemin genel gerekliliklerinin yanında özellikle belirli bir metot ile çalışılan parametreler esas alınmalıdır. Kuruluş, deney hizmeti sunduğunda gerekliliklerini TS EN ISO/IEC 17025'e göre düzenlemek ve bu alanda akreditasyonu planlamak durumundadır. Laboratuvar rutin olarak uyguladığı, güçlü olduğu ve kendisine avantaj sağladığı parametrelerde akredite olmalıdır (4).

Akreditasyon süreci, Uluslararası Laboratuvar Akreditasyon Birliği (ILAC), Avrupa Akreditasyon Birliği

(EA) rehber dokümanları ile TÜRKAK tarafından bu doğrultuda hazırlanan dokümanlarda tanımlanmıştır.

Akredite laboratuvarlar için, KYS'nin standart gerekliliklerine göre tanımlanması, dokümanite edilmesi ve personel şartlarının sağlanması önemlidir. Bunların sağlanmadığı durumlarda uygunsuzluklar oluşmaktadır. Yönetim sisteminin standart ve prosedürlerini uygulayan personelin uyum içinde olması sistemi olumlu etkilemektedir.

KYS dokümantasyonunda ve/veya standartlarda tanımlanmış uygulamalardan uzaklaşmış olmak, faaliyetleri yerine getirmemek "uygunsuzluk" olarak tanımlanmaktadır. Uygunsuzluklar büyük, küçük ve gözlem olmak üzere üç sınıfta incelenebilir. Kalite sisteminin çatısına aykırılık oluşturan ve standart gerekliliklerin mevcut olmadığı durumlarda "büyük", sistem kurulmuş fakat sistem çalışırken oluşan aksaklıklar "küçük" uygunsuzluk ve sistemin işleyişini çok engellemeyen ama sonraki denetimlerde incelenecek noktalar ise "gözlem" olarak belirtilebilir.

Uygunsuzluklar saptandıktan sonra düzeltici ve önleyici faaliyetler düzenlenerek aksaklıklar giderilir.

Uygunsuzluklar giderilinceye kadar verilen hizmet sunumuna ara verilir ve faaliyetler durdurulur. Uygunsuzluk giderildikten sonra faaliyetlere devam edilir.

Genel bulgular veya uygunsuzluklar; laboratuvarın genel durumu (cihaz, ekipman, alt yapı, fiziki koşullar vb.), personel yeterliliği, devam eden ve tekrarlanan faaliyetler ile birlikte değerlendirilmelidir.

Genel olarak uygunsuzluklar şu şekilde özetlenebilir:

- Standart gerekliliklerine aykırılık
- Çevre ve yerleşim şartları
- Dokümantasyon
- Personel ile ilgili sıkıntılar
- Ölçüm metotları, izlenebilirlik
- Sistem işleyişinde görülen aksaklıklar
- Kalite güvencesinin sağlanamaması
- Müşteri talepleri

Akreditasyon Çalışmalarında Genel Hususlar

- Akreditasyon kapsamının belirlenmesi
- Kalite sistem eğitimleri verilmesi
- Kalite dokümantasyonunun oluşturulması
- Laboratuvar altyapısının, çevre ve yerleşim koşullarının düzenlenmesi
- Eksik cihaz ekipmanın tamamlanması olarak özetlenebilir.

Akreditasyon denetimlerinde laboratuvarların kalite sistemi “Yönetim Şartları”; deney/kalibrasyon faaliyetleri ise “Teknik Şartlar” maddesi altında belirtilen gerekliliklere göre değerlendirilmektedir. Deney/kalibrasyon hizmetleri için akredite olmak isteyen bir laboratuvar, standartta belirtilen şartlar doğrultusunda KYS’yi oluşturur ve sürdürür. Bu kapsamda, KYS uygulamalarının tanımlandığı dokümantasyon oluşturulur. Akreditasyon sürecinde tüm dokümanlar ve bu dokümanlarda tanımlanan uygulamalar ile ilgili denetimlere tabii tutulur.

TS EN ISO/IEC 17025 “Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği İçin Genel Şartlar” Standardı ve denetlemelerde kullanılan maddeleri

aşağıdaki gibidir:

4. Yönetim Şartları
 - 4.1 Kuruluş
 - 4.2 Yönetim sistemi
 - 4.3 Doküman kontrolü
 - 4.4 Taleplerin, tekliflerin ve sözleşmelerin gözden geçirilmesi
 - 4.5 Deneylerin ve kalibrasyonların taşeronla verilmesi
 - 4.6 Hizmet ve malzemelerin satın alınması
 - 4.7 Müşteriye hizmet
 - 4.8 Şikayetler
 - 4.9 Uygun olmayan deney ve/veya kalibrasyon işleminin kontrolü
 - 4.10 İyileştirme
 - 4.11 Düzeltici faaliyet
 - 4.12 Önleyici faaliyet
 - 4.13 Kayıtların kontrolü
 - 4.14 İç tetkikler
 - 4.15 Yönetimin gözden geçirilmesi
5. Teknik Şartlar
 - 5.1 Genel
 - 5.2 Personel
 - 5.3 Yerleşim ve çevre şartları
 - 5.4 Deney ve kalibrasyon metotları ve metodun geçerli kılınması
 - 5.5 Cihazlar
 - 5.6 Ölçümlerin izlenebilirliği
 - 5.7 Numune alma
 - 5.8 Deney numunelerine ve kalibrasyona gelen cihazlara uygulanan işlemler
 - 5.9 Deney ve kalibrasyon sonuçlarının kalitesinin güvencesi
 - 5.10 Sonuçların rapor haline getirilmesi (3).

Daha önce yapılan denetim ve değişik otoritelerce yapılan veri derleme çalışmalarından ortaya çıkan sonuçların değerlendirilmesiyle oluşturulan yol haritası, 17025 akreditasyon hazırlıklarında üzerinde durulması gereken noktaların belirlenmesinde yararlı olmaktadır. Bu tip çalışmalar sayesinde deneyim,

zaman, maliyet ve verimlilik anlamında avantaj sağlanmaktadır (5, 6).

17025 kalite sistemi kurulum aşamalarında veya kurulduktan sonra denetim mekanizmasının doğru, dürüst ve objektif değerlendirmeler yapması, sistemi gerçekçi ve sürekli iyileştirici şekilde yönlendirmesi gerekmektedir. Sistemi kuran organizasyonun ise güçlü ve tüm unsurlarıyla benimsenmiş kalite alt yapısıyla laboratuvar performansının uyumlu ve verimli çalıştığı bir yapıyı oluşturması beklenmektedir (7).

Organizasyonunun kalite kültürü, akreditasyon taleplerindeki gerçek ihtiyaçlar, zaman ve kaynak kullanılabilirliği, bilgili personel, geçmiş kalite deneyimleri, standartlara uygunluk anlamında laboratuvarların durumu akreditasyon konusunda verilen kararları etkilemektedir. Kalite sistemiyle uyumlu analiz kapsamı, personel ve cihaz/ ekipman şartlarının belirlenmesi, laboratuvarın durumu, sorumlulukların belirlenmesi, maliyetlerin hesaplanması, yol haritasının çizilmesi, sistem yapısının oluşturulması, yönetim ve teknik gereklilikler, kalite göstergelerinin kontrolü, akreditasyona başvurusu ve onayı tecrübelerle belirlenmiş önemli kalite bulgularıdır (8).

17025 standardı kapsamında gelişim indikatörleri ve kalite indeksi, kalite yönetim sistemi dokümanları, düzeltici-önleyici ve iyileştirici faaliyetlerin değerlendirilmesi, iç-dış eğitim sayısı, tetkik sonucu çözümlenmiş uygunsuzlukların sayısı, analistler tarafından çözülen uygunsuzlukların sayısı, kalite sağlama araçları, tetkikler, bilimsel üretim ve bilgi transferi miktarı, akreditasyona bakış açısı, şikayetler gibi noktalar olarak belirlenebilir. Bu noktalar üzerinde durularak kalite yönetim sisteminin sürekli gelişimi sağlanabilir (9).

Rusya’ da 1992-2001 yılları arasında yapılan kalite ve akreditasyon çalışmaları ile oluşturulan kalite sistem geleneği ülke yasalarıyla da uyumlaştırılarak akredite kuruluş sayısında artış sağlanmıştır. Analitik laboratuvarların akreditasyonu ile ilgili yapılan sistematik çalışmalar, standardın maddelerinin

irdelenerek daha kolay anlaşılabilir ve uygulanabilir hale gelmesini sağlamıştır (10).

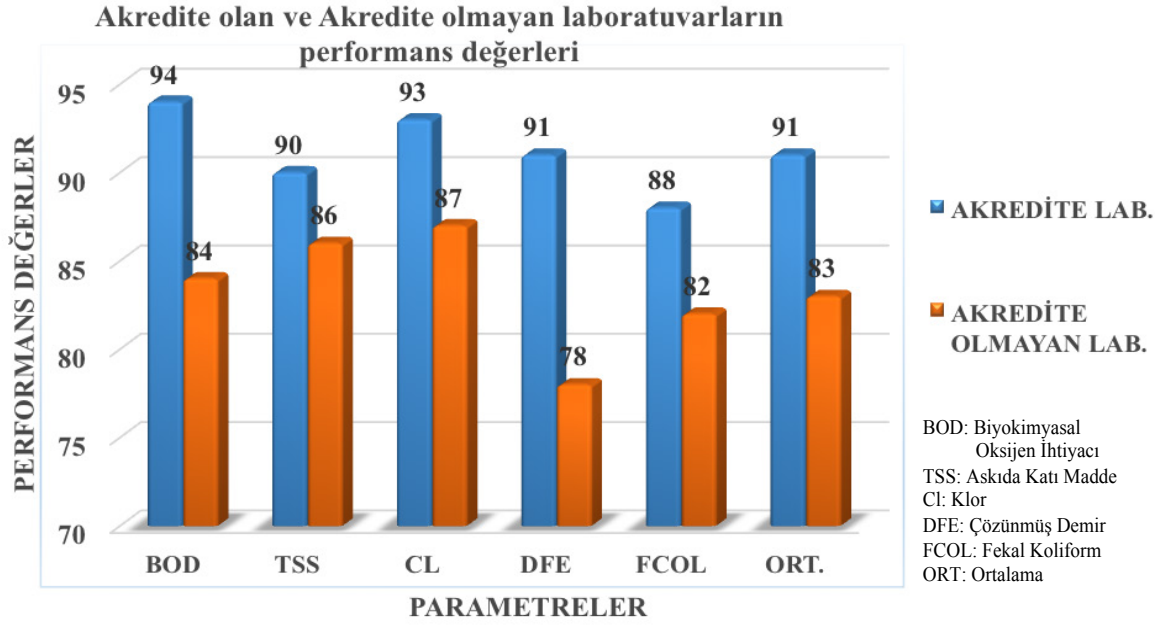
Uygulanan yeterlilik testlerine bakıldığında; akredite laboratuvarların performans değerlerinin daha yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 2). 17025 standardına göre akredite olan laboratuvarların %95 güven aralığında tanımlanmış belirsizliklere sahip sonuçlar üretebileceği beklenmektedir. 17025 standardının personel, yapı, donanım, prosedürler ve çevre şartları ile ilgili maddelerinde oluşabilecek temel sıkıntılar, sistem sürekliliği için acil olarak çözümlenmelidir. Bir laboratuvarın kalite anlamında başarısı, sürekli gelişme programı ile açıklanmalıdır. Yetkinliğin gerçek göstergesi, kuruluşun sahip olduğu istikrar, tutarlılıktır. Denetimlerde belirlenen uygunsuzlukların doğru saptanması ve çözülmesi aynı zamanda ileride ortaya çıkacak olası uygunsuzlukların önüne geçecektir (11).

Denetim kalite sistemini iyileştirdiği gibi denetimlerin de zamanla geliştirilmesi gözden kaçırılmamalıdır. Denetimle hedeflenen ana unsurlar, kalite sisteminin akreditasyon gerekliliklerine uyumlu hale getirilmesi, mevcut aktivite ve prosedürlerin geliştirilmesi, izlenen dokümanite edilmiş tanımlı prosedürlerin doğrulanmasıdır. Denetimleri takiben yapılması gereken düzeltici faaliyetler ve sürekli iyileştirmeler yerine getirilmelidir. Sorumlulukları belirli anahtar personel tanımlamaları, tetkik çalışmalarının iyi değerlendirilmesi ve müşteri memnuniyetine yönelik çalışmalar sistemi iyileştirecektir (12).

Kalite ile ilgili tetkik denetimlerinden sonra otoritelerin de akreditasyonu dikkate almaya başladıkları görülmüştür. İlk denetimlerde yönetim ve teknik şartlarda 17025 standardı şartlarına uyum az iken daha sonraki denetimlerde standarda uyumun arttığı ve kalite kültürünün geliştiği görülmektedir (13).

Denetim Bulgularının Değerlendirilmesi

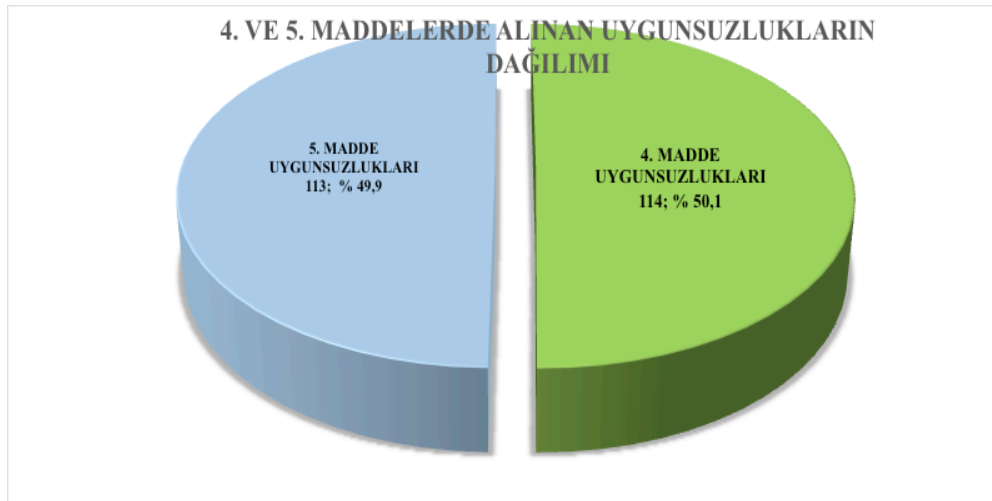
Bu rapor ile TS EN ISO/IEC 17025 “Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği için Genel Şartlar” standardına göre akreditasyon denetimi geçiren laboratuvarların bulguları değerlendirilmektedir.



Şekil 2. Akredite olan ve akredite olmayan laboratuvarlarda yeterlilik testlerinden alınan performans değerleri (11)

Genel olarak laboratuvarlara verilen uygunsuzluklara baktığımızda; TS EN ISO/IEC 17025 Standardı 4. ve 5. maddelerinden alınan uygunsuzlukların sayıca birbirine yakın olduğu ve aynı maddelerde alınan uygunsuzlukların benzer olduğu görülmektedir.

Şekil 3'de görüldüğü gibi 2012 - 2015 yılları arasında halk sağlığı laboratuvarlarının aldığı toplam 227 uygunsuzluğun 114 (%50,1)'ü 4. Madde , 113(%49,9)'ü 5. Madde olmuştur (14).

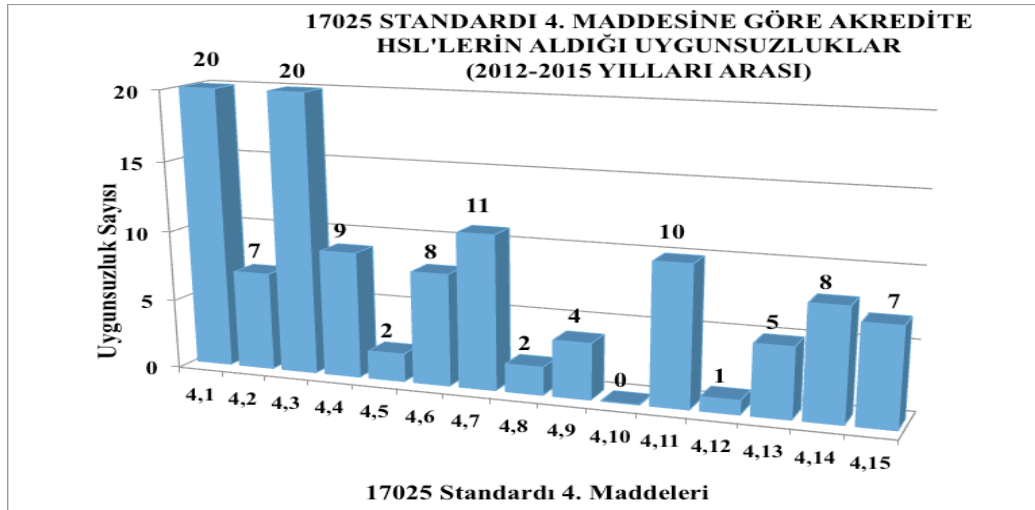


Şekil 3. Standardın 4. ve 5. maddelerinden alınan uygunsuzlukların dağılımı (14)

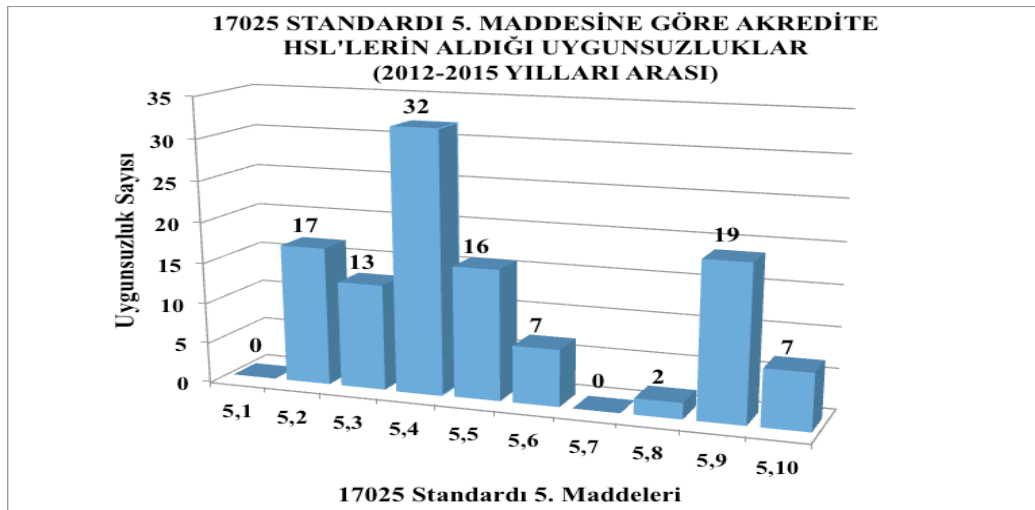
Şekil 4'e göre 4. Maddenin, 4.1 Kuruluş (%17) ve Madde 4.3 Doküman kontrolü (%18) kısmında sistemin temel kurulumu sırasında yaşanan sorunlar görülmektedir. Madde 4.4 sözleşmelerin gözden geçirilmesi (%8), Madde 4.6 satın alma (%7) ve Madde 4.7 müşteriye hizmet (%10) kısımlarında sistem kurulduktan sonra yaşanan sıkıntıların yoğunlaştığı belirlenmiştir.

Daha sonra Madde 4.11 düzeltici faaliyetler (%9), Madde 4.14 iç tetkikler (%7) ve Madde 4.15 yönetimin gözden geçirmesi (%6) şartlarında sıkıntılar belirlenmiştir (14).

Şekil 5'e göre 5. Maddede uygunsuzlukların; Madde 5.2 personel (%15) ve Madde 5.3 yerleşim ve çevre şartları (%12) gibi kuruluş şartlarında yoğunlaştığı izlenmektedir.



Şekil 4. Standartın 4. maddesinden uygunsuzluk dağılımı (14)



Şekil 5. Standartın 5. maddesinden uygunsuzluk dağılımı (14)

Madde 5.4 deney metotları ve metodun geçerli kılınması (%28) bölümünde saptanan unsurların en sık rastlanan sorunlar olarak görülmektedir. Madde 5.5 cihazlar (%14) ve Madde 5.6 ölçümlerin izlenebilirliği (%6) bölümlerinde yine bazı sıkıntılar belirlenmiştir.

Madde 5.9 deney sonuçlarının kalitesi (%17) ve Madde 5.10 sonuçların raporlandırılması (%6) kısımlarında belirlenen sıkıntılar önemli noktalardandır (14). Bir çalışmada, denetim sonrasında; 4.5, 4.14, 4.15, 5.4, 5.5, 5.9 maddelerde yoğunlaşan önemli, temel uygunsuzluklar belirlenirken 4.3, 4.8, 4.13 maddelerinde ise daha az önemli, basit uygunsuzlukların yoğunlaştığı görülmektedir (15).

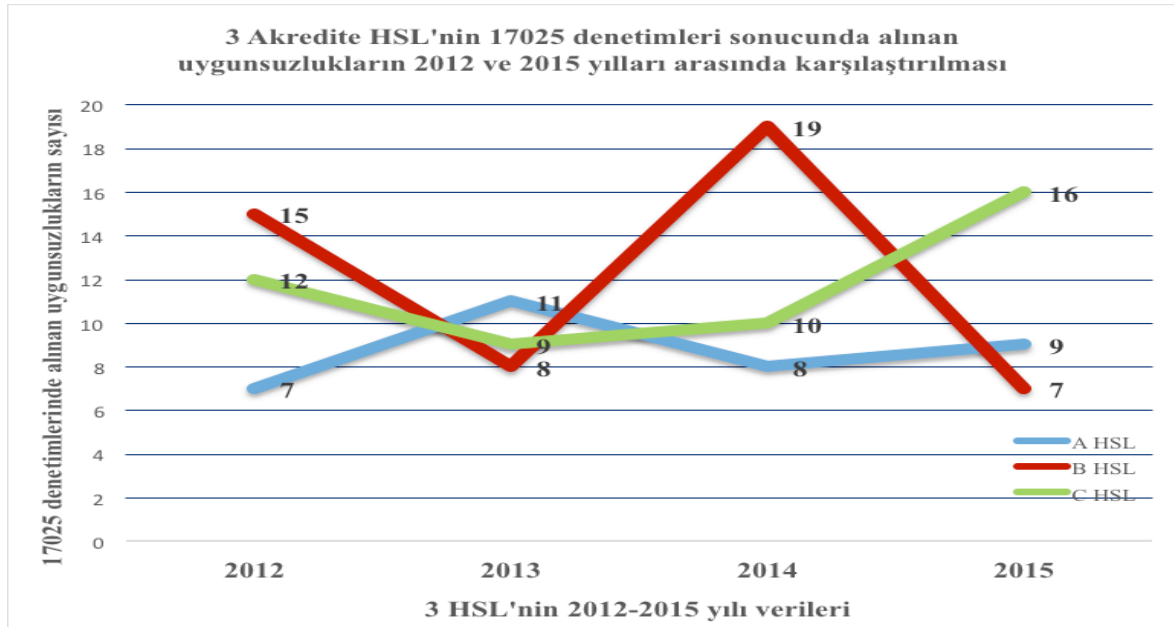
Yeşilöz'ün yaptığı değerlendirmede (16); yönetim şartlarından Madde 4.3 doküman kontrolü ağırlıklı olmak üzere, 4.4, 4.9, 4.11, 4.12, 4.13, 4.14, 4.15 maddelerinde uygunsuzlukların yoğunlaştığını bildirilmektedir.

Çok sayıda değerlendirmenin ele alındığı bir çalışmada; saptanan 10 ana uygunsuzluğun; 4.1, 5.8, 5.9, 5.10 maddelerinde yoğunlaştığı belirtilmektedir (17).

Bilgiç ve ark., (18) yapılan değerlendirmede; tespit edilen bulguların çoğunlukla, uygulamalar sırasında KYS dokümantasyonunda tanımlanan prosedürlerden, talimatlardan sapmalardan kaynaklı 5.3, 5.4, 5.6 ve 5.10 maddelerinde olduğu saptanmaktadır (18).

Başka bir çalışmada; kalite sistemlerinin değerlendirilmesinde, basit uygunsuzlukların en çok 4.3, 4.11, 4.12, 4.13 ve 4.14 maddelerinde yoğunlaştığı görülmektedir (19). Hong Kong'ta laboratuvar performanslarının değerlendirildiği bir çalışmada; uygunsuzlukların, 4.2, 4.3, 4.6 ve 4.13 ile 5.5 (17025 karşılığı olan, 5.4), 5.3. (17025 karşılığı olan, 5.5), 5.6. (17025 karşılığı olan, 5.9.) gibi maddelerde yoğunlaştığı görülmektedir (20).

Akredite bazı HSL'lerde 2012 - 2015 yılları arasında yapılan denetimlerde tespit edilen bulguları incelediğimizde (Şekil 6), 2012 yılında ilk denetimden sonra 2013 yılında kalite sisteminin daha etkin işlediği belirlenmiştir. Daha sonraki yıllarda kapsam genişletme, alt yapı sorunları nedeniyle kalite yapısında aksaklıkların yaşandığı ve bunların zamanla azaldığı görülmektedir (14).



Şekil 6. Akredite bazı HSL'nin 2012-2015 yılları arasında uygunsuzluk karşılaştırması (14)

2002’de yapılan araştırmada; validasyon, cihazlar, ölçümlerin izlenebilirliği, raporlama gibi temel teknik şartlar ile dokümantasyon, satın alma gibi yönetim şartlarında; uygunsuzluklar saptanmıştır (21).

Bir değerlendirmede; uygunsuzlukların validasyon, cihazlar, kalite güvencesi ile dokümantasyon, satın alma, kayıtlar ve iç tetkik gibi yönetim şartlarında olduğu görölmektedir (22).

Arıkan ve ark., (23) çalışmasında; personel, yönetim desteği, organizasyon, kalite sisteminin uygulaması konularında belirlenen sorunların çözülerek kalite sistemi sürekliliğinin sağlanacağı belirtilmiştir.

İç ve dış denetimlerde farklılık gözlenen bir araştırmada; iç denetimlerde doküman kontrolü (%49), ölçme-izleme (%43), müşteriye hizmet (%48) maddelerinde belirlenen uygunsuzlukların giderilerek dış denetim için bir hazırlık sağladığı ve sistemin iyileştirilmesine katkıda bulunduğu belirlenmiştir (24).

Glavič-Cindro ve ark., (25) yaptıkları çalışmada; 4.3, 4.2, 4.1, 4.4 ve 4.7 ile 5.9, 5.10, 5.6, 5.2, 5.4 ve 5.5 maddelerinde yoğunlaşma belirtilmektedir.

Fitzpatrick ve ark., (26) raporunda; 4.14, 4.15, 4.3, 4.7, 5.2, 5.4 ve 5.5 maddeleri ile ilgili saptanan uygunsuzlukların sistemin işleyişine engel olmadığından etkili düzeltici faaliyetlerle kısa sürede kolaylıkla giderilebileceği bildirilmektedir.

İlk denetimlerde; organizasyon, personel, doküman kontrolü, sistem işleyişı vb. temel yapısal uygunsuzluklar fazla iken daha sonraki denetimlerde bunlar azalmakta fakat sistem işleyişı ile ilgili daha az önemli uygunsuzluklar ortaya çıkmaktadır.

Genel olarak denetim bulgularına bakıldığında TS EN ISO/IEC 17025 standardının “Yönetim Şartları”nın 4.1, 4.3, 4.7, 4.10 maddelerinde ve “Teknik Şartları”nın 5.2, 5.4, 5.5, 5.9 maddelerinde uygunsuzlukların yoğunlaştığı görölmektedir. Bu alanda yapılan çalışmalarda; elde edilen bulgular benzerlik göstermektedir. Özellikle standart temel

gereklilikleri (kalite yönetim sistemi ile doküman kontrol) ve altyapı gereklilikleri sağlandıktan sonra temel uygunsuzluklar ve zamanla basit uygunsuzluklar oransal olarak azalmaktadır. Standardın 4.3, 5.4, 5.5, 5.2, 5.9, 4.11, 4.12 maddelerinde saptanan bulgularda benzerlikler görölmektedir.

Halk sağlığı laboratuvarlarından elde edilen denetim bulguları diğer çalışmalarda elde edilen bulgularla birlikte değerlendirildiğinde; özellikle standardın 4.3 doküman kontrolü maddesinde benzer uygunsuzlukların yoğunlaştığı görölmektedir (14, 16, 19-26). Yine standardın 5.4 metodun geçerli kılınması ve 5.5 cihazlar maddesinde uygunsuzluklar yoğun olarak ortak nitelikler taşımaktadır (14, 18, 20-22, 25, 26). Madde 4.7 Müşteriye hizmet (24, 25), Madde 4.11 Düzeltici faaliyet (16, 19), Madde 5.2 Personel (23, 25, 26) ve Madde 5.9 Deney sonuçlarının kalitesinin güvencesi (17, 26) maddelerinde de ortak uygunsuzluklar belirlenmiştir.

Diğer çalışmalarda; Standardın Madde 4.13 kayıtların kontrolü (16, 19, 20, 22), Madde 5.6 Ölçümlerin izlenebilirliği (18, 21, 24, 25), Madde 5.10 Raporlandırma (18, 21, 26) maddelerinde belirlenen uygunsuzluklar ise halk sağlığı laboratuvarlarında daha az görölmektedir.

SONUÇ

Farklı çalışmalarda, belirlenen kalite sistemi ile ilgili uygunsuzlukların ortak yanlarının olması önemli bir noktadır. Bu durum, laboratuvarlarda kalite sisteminin kurulumu ile ilgili çalışmalarda bize ipuçları vermektedir. Elde edilen bulgular; gerekli planlamaların yapılmasında, sistem ana hatlarının oluşturulmasında, alt yapı çalışmalarında, ilgili personelin uygun yerlerde görevlendirilmelerinde, sistem sürekliliğinin sağlanmasında ve kalite kültürünün kurumsal olarak yerleştirilmesinde büyük fayda sağlayacaktır.

Bulgular, bize kalite sisteminin kuruluşunda oluşturulacak doküman yapısının önemini ve sistem işleyişiyle örtüşmesi gerektiğini göstermektedir. Kullanılan metotların laboratuvarlardaki uygulamalarla uyumu ve geçerli kılınmaları, bu konudaki çalışmaların titizlikle ve düzgün olarak yapılması, laboratuvarlarda kullanılan cihazların uygun nitelikleri taşıması, kalibrasyon, bakım vb. işlemlerin ve tüm kalite gerekliliklerin yerine getirilmesinin sistem sürekliliğinin sağlanmasında önemli olduğunu göstermektedir.

Düzenli işleyen bir kalite sistemi ve denetim sürecinde başlangıçta iç tetkik ve ilk denetimlerde belirlenen uygunsuzlukların zamanla azaltılabilmesi, sistemin düzenli çalıştığı bir ifadesidir. Akreditasyon kurumunca yapılan denetimler sonrasında belirlenen düzeltici faaliyetler ile uygunsuzlukların giderilmesi, kalite kontrol çalışmaları, raporlama aşamalarında gösterilecek hassasiyet kurumsal iyileştirme faaliyetlerine katkıda bulunacaktır. İç tetkik sırasında belirlenen uygunsuzluklar ile ilgili yapılacak kısa etkili çalışmalar, akreditasyon denetimlerinde görülen uygunsuzlukların azalmasında faydalı olacaktır.

Tüm belirlenen uygunsuzluklar sistem

iyileştirilmesine olumlu katkıda bulunmaktadır. Denetim sonuçları ve çıktıları; kalite sistemi kapsamında zayıf noktaların belirlenerek sistemin geliştirilmesi ve risklerin azaltılmasında yapılacak faaliyetlere yol gösterecektir. Saptanan bulgular, kalite sisteminin sürekliliği için önemlidir ve bu konuda çalışmalar yapacak benzer laboratuvarların kalite sistemlerinin gelişmesine yardımcı olacaktır.

Mevcut yasalar ve bu konuda çalışan paydaş laboratuvarların geliştirilmesi, personelin kalite tabanında bilgi seviyesinin ve çalışma disiplininin artırılması, tüm kamu ve özel kuruluşların etkin bir süreçte işbirliği içinde çalışabilmeleri ülke çapında kalite ve akreditasyon yapılarını güçlendirecektir.

Sonuç olarak akreditasyon denetimleri sırasında tespit edilen uygunsuzlukların değerlendirilerek elde edilen sonuçların, akredite olan veya bu konuda çalışmalar yapacak benzer laboratuvarlarda fayda sağlayacak bir doküman olarak kullanılacağı düşünülmektedir.

TS EN ISO/IEC 17025 standardına göre akreditasyon konusunda tanınan ve yetkinlik anlamına gelen kurumsal bir prestij ifadesidir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmadaki emek ve katkılarından dolayı akredite olan halk sağlığı laboratuvarları çalışanlarına teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Anonymous. 22 Ocak 2015 tarih ve 29244 sayılı Halk Sağlığı Laboratuvarları ve Yetkilendirilmiş Laboratuvarların Çalışma Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik, T.C. Sağlık Bakanlığı.
2. Anonymous. TS EN ISO 9001 Kalite Yönetim Sistemleri - Şartlar, Ankara: TSE, 2009.
3. Anonymous. TS EN ISO/IEC 17025, Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği İçin Genel Şartlar, Ankara: TSE, 2012.
4. Anonymous. Complying with ISO 17025 A practical guidebook for meeting the requirements of laboratory accreditation schemes based on ISO 17025:2005 or equivalent national standards. United Nations Industrial Development Organization, Vienna, Austria, 2009.
5. 23 Must Have Items to Survive an ISO 17025 Accreditation Audit <http://www.isobudgets.com/23-must-have-items-to-survive-an-iso-17025-accreditation-audit/>, Erişim Tarihi: 21.12.2015.
6. Anonymous. Guidance to the Application of ISO/IEC 17025 Requirements to UL's Data Acceptance Program (DAP), <http://ul.com/global/documents/offering-services/programs/dap/tools/00-OP-C0043.pdf>, Erişim Tarihi: 21.12.2015.
7. Sadikoglu E, Temur T. The relationship between ISO 17025 quality management system accreditation and laboratory performance, quality management and practices, Kim-Soon Ng, ed., 2012. ISBN:978-953-51-0550-3, InTech, available from: <http://www.intechopen.com/books/quality-management-andpractices/iso-17025-quality-management-system-accreditation-and-laboratory-performance>, Erişim Tarihi: 21.12.2015.
8. Grochau IH, Schwengber ten Caten C. A process approach to ISO/IEC 17025 in the implementation of a quality management system in testing laboratories, Practitioner's Report. Accred Qual Assur, 2012; 17: 519-27.
9. Catini RH, Pires de Souza FJ, Pinhel MFM, Mendonça AO, Polise 'l Paccos VH, Olivares IRB. Application of indicators and quality index as a tool for critical analysis and continuous improvement of laboratories accredited against ISO/IEC 17025, Practitioner's Report, Accred Qual Assur, 2015; 20: 431-6.
10. Boldyrev IV, Karpov Yu. A implementation of ISO/IEC 17025 standard for the accreditation of analytical laboratories in Russia, policies and concepts, Accred Qual Assur, 2004; 9: 99-105.
11. Anonymous. How a laboratory quality system adds value. T27 - CALA 17025:2005 Handbook, 2007; 6-8.
12. Linko S. Internal audits in private medical laboratory practice - a Finnish experience in 1996-2000, Practitioner's Report. Accred Qual Assur, 2002; 7: 55-9.
13. Shirani Seneviratne MC. Establishment of a quality system at the Nuclear Analytical Laboratories of the Atomic Energy Authority, Sri Lanka, General Paper. Accred Qual Assur, 2006; 10:613-6.
14. Bayram G. Halk sağlığı laboratuvarlarının kalite kapsamında değerlendirilmesi. Sağlıklı Su Yönetimi Kongresi. Mayıs, 20-22, Erzurum-Türkiye. 2015.
15. Anonymous. Guidelines on Grading of Non-conformities, ILAC-G20:2002. The ILAC Secretariat, Australia.
16. Yeşilöz R. TS EN ISO/IEC 17025 4. madde (yönetim şartları) kapsamında TÜRKAK akreditasyon denetimlerinde sık rastlanılan uygunsuzluklar ve TÜRKAK politikaları, II. ULAG. 2. Ulusal Laboratuvar Akreditasyonu ve Güvenliği Sempozyumu ve Sergisi. 30 Ekim - 1 Kasım, İstanbul, 2014.
17. Anonymous. op 10 Non-Conformances to ISO/IEC 17025:2005, Qualtrax, Inc.105 Industrial Drive Christiansburg, VA 24073, <http://www.qualtrax.com/images/uploads/Top10NonConformances.pdf>, Erişim Tarihi: 21.12.2015.

18. Bilgiç E, Sadıkoğlu E, Turhan S. TS EN ISO/IEC 17025 standardı denetimlerinde teknik alanda tespit edilen genel bulgular, VIII. Ulusal Ölçüm Bilim Kongresi. 26-28 Eylül, Kocaeli, 2013.
19. Gravestock R. Common nonconformities, www.batalas.co.uk/how-to-guides/auditing-iso-basics/common-nonconformities/ Erişim Tarihi: 21.12.2015.
20. Bella H, Eric H. The most common nonconformities encountered during the assessments of medical laboratories in Hong Kong using ISO 15189 as accreditation criteria. Hong Kong Accreditation Service, Innovation and Technology Commission, HKSAR Government, Hong Kong. *Biochemia Medica*, 2012; 22 (2): 247-57.
21. Adams TC. Most commonly cited deficiencies, A2LA assessments, 12.06.02. http://www.a2la.org/guidance/Common_17025_Defs.pdf, Erişim Tarihi: 21.12.2015.
22. Knake, RL. Most common deficiencies, NCSLI Conference NCSLI Conference Ann Arbor, MI April 2009, [www. A2LA.org](http://www.a2la.org) <http://www.modalshop.com/filelibrary/Most Common Deficiencies.pdf>, Erişim Tarihi: 21.12.2015.
23. Arikan P, Acar O, Acar R, Aycik GA, Cetiner MA, Demirel H, et al. Establishment of a quality system for nuclear analytical laboratories. *J Radioanal Nuc Ch*, 2004; 259 (3): 391-4.
24. Karkoszka T. Conformity assessment as a manner of risk optimisation in organisations, *Industrial management and organisation. JAMME*, 2012; 55 (2): 881-8.
25. Glavič-Cindro D, Korun M. Statistical analysis of findings in external and internal audits and assessments in a testing laboratory, practitioner's report. *Accredit Qual Assur*, 2006; 11 (7): 343-8.
26. Fitzpatrick F, Mills T, Knoerlein D. Report on conformance with ISO/IEC 17025:2005, accreditation assessment conducted on May 13-15, 2013, North Carolina State Crime Laboratory Triad Regional Laboratory ANSI-ASQ National Accreditation Board/FQS, www.fqsforensics.org, September 17, 2012; 1-34.

Liken metabolitlerinin antikanser aktivite etkisinin moleküler düzeydeki mekanizmaları

The molecular mechanisms of the effect of anticancer activity on lichen metabolites

Merve ŞEKERLİ¹, Nil KILIÇ¹, Demet CANSARAN-DUMAN¹

ÖZET

Tarih boyunca doğal ürünlerden elde edilen bileşenler; tıp, eczacılık ve biyoloji gibi pek çok alanda kullanılmıştır. Kanser alanında doğal moleküller model olarak kullanılarak yeni ve önemli bazı ticari ilaçlar elde edilmiştir. Sitotoksik ajanların geliştirilmesi için yapılan çalışmalar yeni antikanser ilaçlarının keşfi için de önemli bir adım olmuştur. Doğal bileşenlerin geniş yapısal çeşitliliği ve biyoaktivite potansiyeli moleküler modifikasyonlarla terapötik potansiyellerini geliştirmeye hizmet edebilir. Bu amaçla; özellikle son birkaç yılda liken kaynaklı bileşenlerin antikanser aktivitesiyle ilgili yapılan çalışmalar hızla artmaktadır. Likenler; fungus, alg veya siyanobakterilerin bir araya gelerek oluşturdukları simbiyotik birlikteliklerdir. Likenler, çoğu kendine özgü çok fazla sayıda sekonder metabolit sentezlerler. Liken sekonder metabolitleri antiviral, antitümör, antibakteriyel, antiherbivor ve antioksidan olmak üzere pek çok biyolojik aktiviteye sahiptirler. Son yıllarda liken sekonder metabolitlerinin tıbbi ve biyoteknolojik alanda dikkat çeken en önemli özelliklerinden birisi de kanser tedavisinde aday molekül olabileceklerine dair sonuçların ortaya çıkmasıdır. Kanser moleküler temelleri ve özellikle apoptoz yolağı ile ilişkili süreçlerin aydınlatılması kanser tedavisinde alternatif

ABSTRACT

The components obtained from natural products have been used in many fields such as medicine, pharmacy and biology throughout the history. Some new and important commercial drugs have been obtained by using as a natural molecule model in the cancer field. Studies for the development of cytotoxic agents were also an important step for the discovery of new anticancer drugs. Large structural diversity of natural components and their bioactivity potential may serve to improve the therapeutic potential with molecular modification. For this purpose, especially the number of studies on the anticancer activity of lichen components has increased in last few years. Lichens are symbiotic organisms compose of fungus and algae or cyanobacteria. Lichens synthesize a great variety of secondary metabolites specifically. Lichen secondary compounds have many possible biological activities such as antiviral, antitumor, antibacterial and antiherbivore and antioxidants. In recent years, one of the most important features of lichen secondary metabolites in medical and biotechnological field is the emergence of results that maybe candidate molecules in the treatment of cancer. Elucidation of the molecular basis of cancer related processes and especially apoptosis pathway

¹Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Merkez Laboratuvarı, Tandoğan, Ankara, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Demet CANSARAN-DUMAN

Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı Tandoğan Ankara - Türkiye

Tel : +90 533 344 47 44

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

Geliş Tarihi / Received : 10.07.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 02.05.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.24650

Şekerli M, Kılıç N, Cansaran-Duman D. Liken metabolitlerinin antikanser aktivite etkisinin moleküler düzeydeki mekanizmaları
Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(1): 95-102

ilaçların bulunmasında büyük bir yarar sunacağı düşünülmektedir. Bu derlemede; liken sekonder metabolitleri, kanser tedavisinde etkin kullanım potansiyelleri ve kanserleşme sürecinde özellikle apoptoz yolağı başta olmak üzere tüm moleküler mekanizmalar hakkında bilgi sunulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: liken sekonder metabolitleri, kanser, moleküler mekanizmalar

are provide to great utility in finding alternative drugs for treating cancer. In this review provides information about lichen secondary metabolites, the potential for effective use in the treatment of cancer, all molecular mechanisms in cancerous processes and mainly apoptosis pathway.

Key Words: lichen secondary metabolites, cancer, molecular mechanisms

GİRİŞ

Kanser, hücre bölünmesinde DNA eşlenmesi sırasında hata oluşması sonucu hücrelerin kontrolsüz veya anormal bir şekilde büyümesi ve çoğalması olarak tanımlanmaktadır (1). Kanser oluşumu birçok sebebe dayanmaktadır. Bunların başında; X-ışınları, gama ışınları, radyoaktif maddelerden yayılan partikül radyasyonları, ultraviyole ışınları, kimyasal maddeler, kalıtsal eğilim ve viral faktörlerin etkisi bulunmaktadır (1). Bu derleme ile liken sekonder metabolitleri, kanser tedavisinde etkin kullanım potansiyelleri ve kanserleşme sürecinde özellikle apoptoz yolağı başta olmak üzere tüm mekanizmalar hakkında bilgi sunmak amaçlanmıştır.

Liken Sekonder Metabolitlerinin Kanser Tedavisinde Aday Biyolojik Moleküller Olarak Kullanımı

Son yıllarda, özellikle biyoteknoloji alanında alternatif bir biyolojik organizma kaynağı olarak likenlerin kullanımı oldukça dikkat çekmektedir. Likenler; mantarlar ve fotosentetik alglerden meydana gelen simbiyotik birlikteliklerdir (2). Şekil ve yaşayış bakımından kendilerini oluşturan alg ve mantarlardan tamamen ayrı bir yapı gösterirler. Likenler, “liken maddeleri” adı verilen ve birçoğu kendine özgü olan çeşitli metabolitleri sentezlemektedirler. Yapılan araştırmalar sonucunda; yapısı bilinen liken maddelerinin sayısı 1000’e ulaşmıştır (3). Liken maddeleri arasında aminoasit türevleri, şeker alkoller, alifatik asitler, γ , δ - ve makrosiklik laktonlar,

monosiklik aromatik bileşikler, kinonlar, kromonlar, ksantonlar, dibenzofuranlar, depsidler, depsidonlar, depsonlar, terpenoidler, steroidler ve karotenoidler gibi bileşikler yer almaktadır (4). Likenlerde bulunan organik bileşiklerin büyük bir bölümü, mantar hücresi içinde veya hiflerin yüzeyinde depolanan genellikle suda çözünmeyen sadece organik çözücülerle ekstre edilebilen sekonder metabolitlerdir. Uzun zamandır hastalıkların tedavisinde kullanılan likenlerin iyileştirici özelliklerinin yapılarında bulunan asidik, çoğu fenolik karakterli depsit ve depsidon türevi liken metabolitlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (5).

Likenlerden elde edilen ve üzerinde en çok çalışılmış olan sekonder metabolit usnik asittir (6). Dibenzofuran türevi olan usnik asit 2,6-diasetil-7,9-dihidroksi-8,9b-dimetil-1,3(H,9bH)dibenzofurandion olup C₁₈H₁₆O₇ kimyasal yapısına sahiptir. Usnik asit, molekül yapısında bir kiral merkez içerdiği için doğada D- veya L- formlarında ya da rasemik karışım olarak bulunmaktadır ve her iki formunda aktif biyolojik özellik göstermektedir (6). Bu maddenin aynı zamanda antitüberküloz, antibakteriyel, antiprotazoal, antimikotik, antiviral, antiülser, antiproliferatif, antienflamatuvar, analjezik ve antipiretik etkinliklerini incelemek için yapılan çalışmalar mevcuttur (6). Bir diğer liken sekonder metaboliti olan atranorin likenlerden en çok elde edilen sekonder metabolitlerden biridir. Atranorin

birçok liken türünde bulunan depside grubuna ait önemli bir sekonder metabolittir (7). Atranorin sekonder metabolitinde yapılan çalışmalar sonucunda; antimikobakteriyal, antimikrobiyal, antiinflamatuvar özellikleri tespit edilmiştir (8-10).

Liken metabolitleri, kanser hücrelerine karşı antiproliferatif etkileri test edilmesine rağmen elde

edilen mevcut veriler oldukça kısıtlıdır (11). Liken sekonder metabolitlerinden en fazla çalışılan usnik asit ve atranorinin farklı kanser hücre hatları üzerine antikanser aktivitesini belirlemeye yönelik 2015 yılına kadar yapılan tüm çalışmalar Tablo 1’de gösterilmiştir (Tablo 1) (12-26).

Tablo 1. Liken sekonder metabolitlerinin in vitro antikanser aktivitesi ile ilişkili yapılan çalışmalar (12)

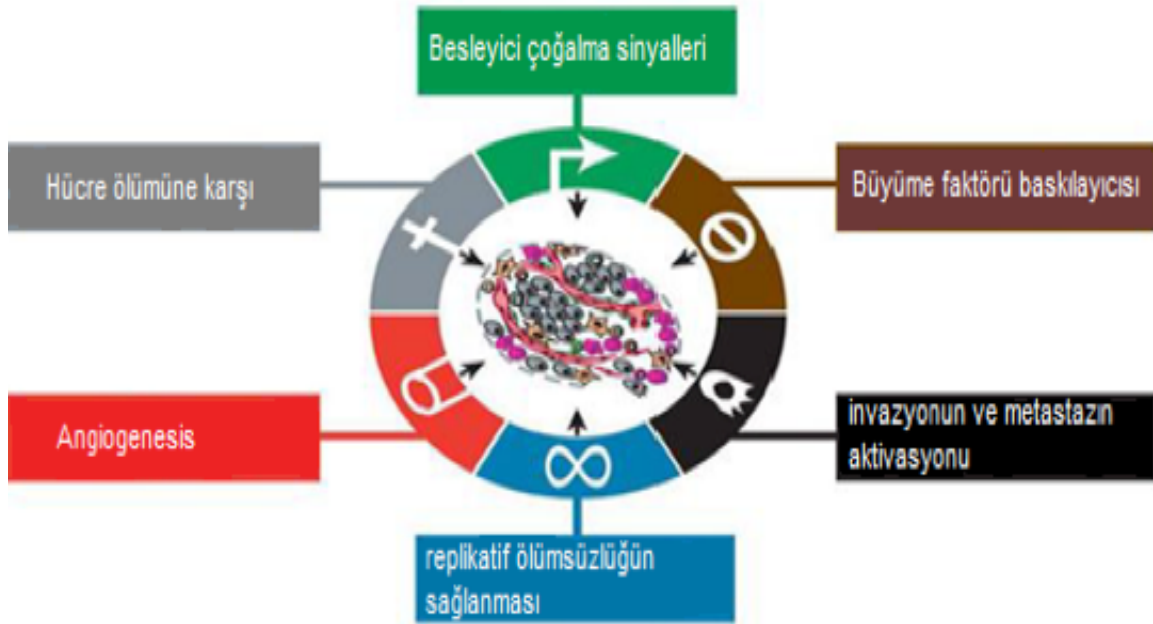
Liken Metabolit	Sekonder Metabolit İzolasyon Kaynağı	Test Edilen Hücre Hatları	Kaynak No
Usnik asit Atranorin	Ticari	İnsan ovaryum karsinoma A2780, İnsan kolon adenokarsinoma HT-29	13
Usnik asit	<i>Cladonia lepidophora</i>	İnsan meme adenokarsinoma MCF7, İnsan kolon adenokarsinoma HCT-116, İnsan serviks adenokarsinoma HeLa	14
Atranorin	<i>Bacidia stipata</i>	İnsan prostat kanser androjen (LNCaP), İnsan prostat kanser DU-145	15
Usnik asit Atranorin	Ticari	İnsan ovaryum A2780, İnsan meme MCF-7, İnsan kolon HT-29, İnsan T hücreleri, Jurkat İnsan serviks HeLa, İnsan meme SK-BR-3, İnsan kolon wild-type p53, HCT-116, p53+ /+, İnsan kolon p53 HCT-116, p53-/-	13
(+) Usnik asit (-) Usnik asit	<i>C. arbuscula</i> <i>Alectoria ochroleuca</i>	Meme kanser T-47D, Pankreatik kanser hücreleri, Kapan-2	16
(-) Usnik asit	Ticari	Meme kanser hücreleri, MCF-7 ve H1299	17
(-) Usnik asit	<i>Xanthoparmelia somloensis</i>	MM98, A431, HaCaT	18
Usnik asit ve türevleri	Ticari	L 1210, 3LL, K-562, DU145, MCF 7, U251, Fare CHO ve CHO-MG	19
(+) Usnik asit (-) Usnik asit	<i>R. farinacea</i> <i>C. foliacea</i>	Fare fibroblast V79, V79, A549	20
Usnik asit	Ticari	MCF-7 , MDA-MB-231, H1299	21
(-) Usnik asit	Ticari	L1210, 3LL, U215, DU 145, MCF 7, RCB-0461	22
Atranorin, Sphaerophorin, Divarikatik asit, Difraktik asit, Gyrophorik asit, Usnik asit	Ticari	Hepatosist	23
Atranorin	Ticari	Fare dalağında lenfosit	24
(+) Usnik asit	Ticari	HaCaT	25
Usnik asit türevleri	Ticari	L1210	26

Liken Metabolitlerinin Antikanser Mekanizmaları

Kanserde değişikliğe uğramış genler, normalde doku homeostazisi ve hücre büyümesini düzenleyen üç ana biyolojik yol olan hücre döngüsü, apoptoz ve diferansiyasyonu etkiler (27). Kanser hücrelerinde, kontrolsüz proliferasyon, farklılaşmanın bloke edilmesi, azalmış apoptoz, değişmiş doku yapısı gibi kanser hücrelerinin karakteristik özelliklerine sebep olmak üzere bu yolların aktivitesi artmış veya inaktive edilmişlerdir. Bazı “kansere yolakları” spesifik bir kanser türüne dahil olurken, diğerleri malignan tümörlerin geniş bir aralığında kritik rollere sahip olabilirler. Her hücresel regülatör sistemi bir kanser yolağı olarak düşünmekten sakınmak için şöyle bir tanımlama formülü geliştirilebilir: Bir “kansere yolağı”, en azından bir insan kanserinin gelişimi için bir genetik veya epigenetik mutasyonla aktivasyonu veya inaktivasyonu gerekli olan bir hücresel regülatör sistemidir. Tipik olarak kansere yolları bir kanser

tipine veya farklı kanser tiplerine sahip bireylerde aynı regülatör sistemlerin farklı komponentlerindeki değişimlerle ortaya çıkabilirler (Şekil 1) (27).

Liken metabolitlerinin olası antikanser etkinliğinin moleküler mekanizması literatürde yapılan çalışmalar ile son yıllarda belirlenmeye başlamıştır (Tablo 2) (28-37). Bazı sekonder metabolitlerin antitümör immünitenin aktivasyonu, telomerez aktivitesini engellenmesi ile devamlı canlılığın sağlanabilmesi, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) sinyal inhibisyonu, hücre döngüsü, apoptotik hücre ölümü, tümör üreten inflamasyon inhibisyonu, aerobik glikolizasyonun inhibisyonu üzerine çalışmalar olduğu gösterilmiştir (28). Ancak şu ana kadar metastazın engellenmesi, büyüme faktör sinyallerinin inhibisyonu ve genom değişikliğinin baskılanması üzerine çalışmalar literatürde yerini almamış olup bu alanlarda liken sekonder metabolitlerinin etkisi araştırılmamıştır (Şekil 2) (28).



Şekil 1. Kanser gelişim süreci (27)

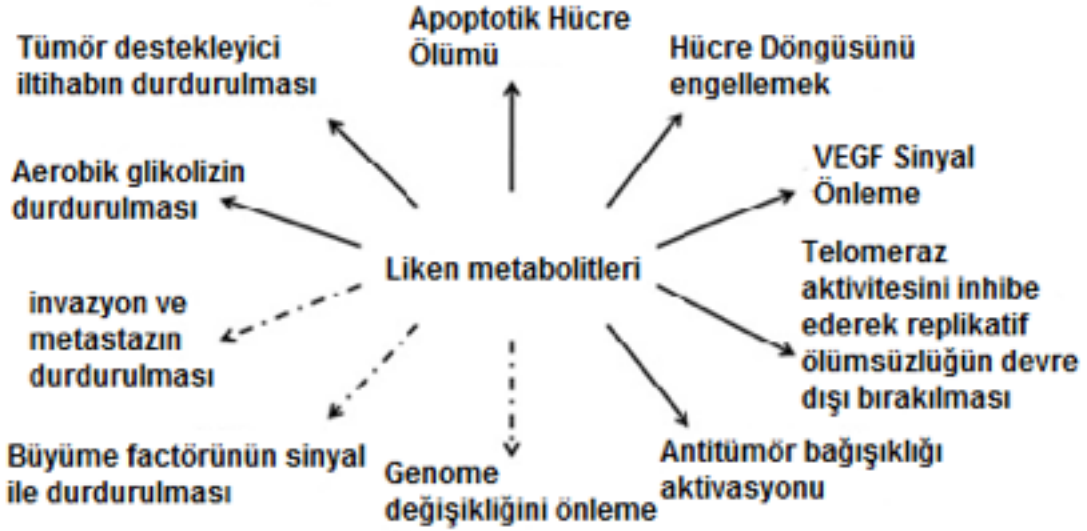
Tablo 2. Liken ürünleri ve mekanizmalar

Liken ürünleri	Moleküler Mekanizmalar	Kaynak No
SİTOTOKSİK		
• Hücre Döngüsü		
Usnik asit	G0/G1 -siklin D1 siklin-bağlı kinazlar (CDKs) ve siklin-bağlı kinaz inhibitör (CDK1) protein ifade düzeyi	30
(+) ve (-) Usnik asit	S fazı içinde hücre döngüsü sonlanma inhibisyonu	31
Usnik asit, Atranorin	S fazı içinde hücre döngüsü	32
• Apoptotik Hücre Ölümü		
Usnik asit	Mitokondriyal membran depolarizasyonu ile apoptotik hücre ölümü	30
Usnik asit, Atranorin	Programlı hücre ölümü aktivasyonu ve mitokondriyal membran potansiyelinin küresel kaybı	33
• Anti-İnflammatör		
Usnik asit	TNF- α ve INOS ekspresyonu	34
• Anti-Tümör İmmunitesi		
Usnik asit	Endotelial hücre çoğalımı inhibisyonu, Endotelial hücrelerin morfolojisinde apoptotik hücrelerin belirlenmesi VEGFR-2	35
Anjiyogenesis		
Olivetorik asit	Fare adipoz doku endotel hücrelerindeki proliferasyonu durdurmuş	36
Usnik asit	VEGFR, ERK1/2 ve AKT/P706S6 K sinyal yollarını durdurmuş	35
Enerji Metabolizması Modulator		
<i>Lecidella carpathica</i>	PTP1B karşı inhibitör aktivite	37

Liken sekonder metabolitlerinin moleküler mekanizmalar üzerine en fazla detaylı araştırma apoptotik yolağı üzerine olmuştur. Usnik asit liken sekonder metaboliti kanser hücrelerinde apoptosizi başlatmaktadır ve ayrıca antimitotik etki göstermektedir (30). Bilindiğı üzere apoptoz genel olarak hücrelerin kendi kendilerini yok ettikleri, genlerle düzenlenen, programlı, RNA, protein sentezi ve enerjiye gereksinim duyan, organizmada

homeostazı koruyan bir olaydır (38). Genel olarak apoptozun düzenlenmesinde kalsiyum, seramid, Bcl-2 ailesi gibi moleküller, p53, kaspazlar, sitokrom-C gibi proteinler ve mitokondriyonlar rol oynar. Apoptotik süreç boyunca hücre içine sürekli kalsiyum girişi olur. Kalsiyum iyonları; endonükleaz, proteaz ve transglutaminaz aktivasyonunda, gen regulasyonunda ve hücre iskeleti organizasyonunda rol alır (39).

Basile ve ark.'nın (40) yaptıkları bir çalışmada;



Kesik çizgiler : Araştırmalar
Kesikli çizgiler: Hala üzerine çalışılmamış olan mekanizmalar

Şekil 2. Liken sekonder metabolitlerinin olası antikanser mekanizmasının şematik gösterimi (28)

Xanthoria parietina liken örneğinin aseton ekstraktında ve parietin sekonder metabolitinde antifungal, antibakteriyel ve antiproliferatif etkisini araştırmışlardır. Antiproliferatif etkiyi değerlendirmek amaçlı insan meme kanser hücre hatları üzerine *Xanthoria parietina* liken örneğinin aseton ekstraktında ve parietinin etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışılan ekstratlar hücreler üzerinde kontrolsüz çoğalmayı durdurmuş ve apoptozu azaltmıştır bunu da hücre döngüsünü düzenleyen genlerin (p16, p27, siklin D1 ve siklin A) seviyesini düzenleyerek gerçekleştirmiş olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca apoptozu dış ve iç hücre yolların etkinleşmesi, tümör nekroz faktörü ilgili apoptosis indükleyici ligand (TRAIL) ve B-hücre lenfoması (Bcl-2) aralığıyla ilişkilendirmişlerdir (40).

Yapılan bazı çalışmalar ile usnik asit liken sekonder metabolitinin antikanser potansiyelini göstermiştir. Ancak etkinlik ve ilişkili mekanizmaları henüz tam olarak araştırılmamış olması nedeniyle Singh ve ark. (41) yaptıkları çalışmada; insan akciğer karsinomu

A549 hücrelerdeki usnik asidin antikanser etkisi ve olası moleküler değişiklikler değerlendirilmiştir. Usnik asit sekonder metaboliti A549 hücre hattının proliferatif etkisini önemli ölçüde baskılamıştır. Hücre büyüme inhibisyonu, hücre döngüsü tutuklama ile ilişkili G0 ve G1 evresi ile yer almıştır. Usnik asit ifade siklin bağımlı kinaz (CDK)4, CDK6 ve siklin D1'in ifadesini azaltmış ve CDK inhibitörü (CDKI) p21/cip1 proteinin ifadesini arttırmıştır. Böylece usnik asit iki katdan daha fazla apoptotik hücrelerde artışa yol açmıştır. Usnik asidin apoptotik etkisi artmış poly(ADP-ribose) polimeraz bölünmesi ile gerçekleşmiştir (41).

Nguyen ve ark. (42) gerçekleştirdikleri çalışmada; *Flavocetraria cucullata* liken türünden izole edilen usnik asit, salazinik asit, squamatik asit, baeomycesik asit, d-protolichesterinik asit ve lichesterinik asit MTT yöntemi ile birkaç insan kanser hücresi üzerine sitotoksik etkisi değerlendirilmiştir. Usnik asit için belirlenen IC50 değeri elde edilen hücreler spesifik apoptotik sinyal yolağını aktif ederek apoptotik hücre popülasyonunda artış gözlemlenmiştir (42).

SONUÇ

Likenler, fitokimyasal ve farmokokimyasal uygulamalarla ilişkili olarak pek çok araştırmacı için uzun zamandır ilgi çeken bir çalışma alanıdır. Güçlü ve seçici bir biyolojik aktiviteye sahip likenlerin ve sekonder metabolitlerinin çeşitli hastalıkların tedavisinde ve özellikle kanser tedavisinde bir kemoterapi ajanı olarak kullanımının araştırılmasında son dönemlerde büyük bir artış ve ilgi oluşmuştur. Yapılan çalışmalarda; likenlerin antikanserojen etkileri ile özellikle apoptoz yoluyla kanserli hücrelerde meydana gelen değişimler araştırılmıştır. Özellikle son yıllarda bitki ve fungus kaynaklı elde edilen ekstraktlar ile yapılan çalışmalar sonucunda tedaviye yönelik ümit verici sonuçlar ortaya konmaktadır. Bu çalışmalarda belirli liken sekonder

metabolitlerinin çok çeşitli sayıdaki kanser hücreleri üzerinde antiproliferatif etki gösterdiği saptanmıştır. Liken sekonder metabolitlerinin kullanımı ile yapılan antikanserojenik çalışmaların sayısı her geçen gün artmasına karşın, kanser spesifik sinyal hedef yolları henüz moleküler boyutta tamamen araştırılmamıştır. Gelecekteki çalışmalarda; liken sekonder metabolitlerinin antikanserojen etkisinin tespiti ile farklı kanser tiplerinde umut verici ilaç aday molekülleri olarak kullanımı hedeflenmektedir. Böylelikle en etkin bileşiğin büyük miktarlarda üretimi ile devam edilecek likene dayalı ilaç tedavisinin kullanılması ile genişletilmiş klinik denemeleri ve spesifik mekanizmaların etki yollarının tanımlanması üzerine odaklanarak kanser tedavisinde umut verici çözümler alınabileceği mümkün görülmektedir.

REFERENCES

- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000; 100: 57-70.
- Sharnoff S. Field guide to California lichens. New York: Yale Uni Pres, 2014.
- Nash III TH. Lichen Biology. Cambridge: Cambridge Uni Press, 1996.
- Huneck S, Yoshimura I. Identification of lichen substances. Berlin: Springer Verlag, 1996.
- Vartia KO. Antibiotics in lichens, In: The Lichens (Ahmadjian V and Hale ME. Academic Press., New York, 1973; 547-61.
- Ingolfsdottir K. Usnic acid. *Phytochem*, 2002; 61: 729-36.
- Kristmundsdottir T, Jonsdottir E, Ogmundsdottir HM, Ingolfsdottir K. Solubilization of poorly soluble lichen metabolites for biological testing on cellines. *Eur J Pharm Sci*, 2005; 24, 539-43.
- Honda NK, Pavan FR, Coelho RG, Leite SRD, Micheletti AC, Lopes TIB. Antimycobacterial activity of lichen substances. *Phytomed*, 2010; 17, 328-32.
- Bugni TS, Andjelic CD, Pole AR, Rai P, Ireland CM, Barrows LR. Biologically active components of a Papua New Guinea analgesic and anti inflammatory lichen preparation. *Fitoterapia*, 2009; 80, 270-3.
- Melo MGD, Araujo AAS, Rocha CPL, Almeida EMSA, Siqueira RD, Bonjardim LR. Purification, physicochemical properties, thermal analysis and antinociceptive effect of atranorin extracted from *Cladonia kalbii*. *Biol Pharm Bull*, 2008; 31: 1977-80.
- Özenoğlu S, Aydoğdu G, Dinçsoy AB, Taghidizaj AA, Deric K, Yılmaz E, et al. Liken sekonder bileşiklerinin farklı insan kanser hücre tipleri üzerine antikanserojenik etkisi. *Türk Hij ve Den Biyol Derg*, 2013; 70-4: 215-26.
- Stanojković T. Investigations of lichen secondary metabolites with potential anticancer activity. *Lich Sec Met*, 2015; 127-46.
- Bačkorová M, Jendželovský R, Kello M. Lichen secondary metabolites are responsible for induction of apoptosis in HT-29 and A2780 human cancer cell lines. *Toxicol in Vitro*, 2012; 26: 462-8.
- Brisdelli F, Perilli M, Sellitri D. Cytotoxic activity and antioxidant capacity of purified lichen metabolites: an in vitro study. *Phytother Res*, 2013; 27: 431-7.
- Russo A, Caggia S, Piovano M. Effect of vicanicin and on human prostate cancer cells: role of Hsp70 protein. *Chem Biol Interact*, 2012; 195: 1-10.
- Einarsdóttir E, Groeneweg J, Björnsdóttir GG. Cellular mechanisms of the anticancer effects of the lichen compound usnic acid. *Planta Med*, 2010; 76: 969-74.

17. O'Neill MA, Mayer M, Murray KE. Does usnic acid affect microtubules in human cancer cells? *Braz J Biol*, 2010; 70: 659-64.
18. Burlando B, Ranzato E, Volante A, Appendino G, Pollastro F, Verotta L. Antiproliferative effects on tumour cells and promotion of keratinocyte wound healing by different lichen compounds. *Planta Med*, 2009; 75: 607-13.
19. Bazin MA, Le-Lamer AC, Delcros JG. Synthesis and cytotoxic activities of usnic acid derivatives. *Bioorg Med Chem*, 2008; 16: 6860-6.
20. Koparal AT, Tüylü BA, Türk H. In vitro cytotoxic activities of (+) usnic acid and (-) usnic acid on V79, A549, and human lymphocyte cells and their non-genotoxicity on human lymphocytes. *Nat Prod Res*, 2006; 20 (14): 1300-7.
21. Mayer M, O'Neill MA, Murray KE. Usnic acid: a non-genotoxic compound with anti-cancer properties. *Anticancer Drugs*, 2005; 16: 805-9.
22. Bezin C, Tomasi S, Rouaud I, Delcros JG, Boustie J. Cytotoxic activity of compounds from the lichen: *Cladonia convoluta*. *Planta Med*, 2004; 70: 874-7.
23. Correche´ ER, Enriz RD, Piovano M. Cytotoxic and apoptotic effects on hepatocytes of secondary metabolites obtained from lichens. *Altern Lab Anim*, 2004; 32: 605-15.
24. Correche´ ER, Carrasco M, Giannini F. Cytotoxic screening activity of secondary lichen metabolites. *Acta Farm Bonaerense*, 2002; 21: 273-78.
25. Kumar KC, Muller K. Lichen metabolites. 2. Antiproliferative and cytotoxic activity of gyrophoric, usnic, and diffractaic acid on human keratinocyte growth. *J Nat Prod*, 1999; 62 (6): 821-3.
26. Takai M, Uehara Y, Beisler JA. Usnic acid derivatives as potential antineoplastic agents. *J Med Chem*, 1979; 22: 1380-84.
27. Corn PG, El-Deiry WS. Derangement of growth and differentiation control in onkogenesis. *Bioessays*, 2000; 1: 83-90.
28. Kim H, Keun Kim K, Hur JS. Anticancer activity of lichen metabolites and their mechanisms at the molecular level. In: Upreti DK, ed. *Recent Advances in Lichenology*. India. Springer, 2015: 201-8.
29. Haraldsdottir S, Gudlaugsdottir E, Ingolfsdottir K, Ogmundsdottir HM. Anti proliferative effects of lichen-derived lipoxygenase inhibitors on twelve human cancer cell lines of different tissue origin in vitro. *Planta Med*, 2004; 70: 1098-100.
30. Singh N, Nambiar D, Kale RK, Singh RP. Usnic acid inhibits growth and induces cell cycle arrest and apoptosis in human lung carcinoma A549 cells. *Nutr Cancer*, 2013; 65: 36-43.
31. Einarsdóttir E, Groeneweg J, Björnsdóttir GG. Cellular mechanisms of the anticancer effects of the lichen compound usnic acid. *Planta Med*, 2010; 76: 969-74.
32. Backorova M, Backor M, Mikes J, Jendzelovsky R, Fedorocko P. Variable responses of different human cancer cells to the lichen compounds parietin, atranorin, usnic acid and gyrophoric acid. *Toxicol In Vitro*, 2011; 25: 37-44.
33. Bačkorová M, Jendželovský R, Kello M. Lichen secondary metabolites are responsible for induction of apoptosis in HT-29 and A2780 human cancer cell lines. *Toxicol In Vitro*, 2012; 26: 462-8.
34. Jin JQ, Li CQ, He LC. Down-regulatory effect of usnic acid on nuclear factor-kappa B-dependent tumor necrosis factor-alpha and inducible nitric oxide synthase expression in lipopolysaccharide-stimulated macrophages RAW. *Phytother Res*, 2008; 22: 1605-9.
35. Song Y, Dai F, Zhai D, Dong Y, Zhang J, Lu B, et al. Usnic acid inhibits breast tumor angiogenesis and growth by suppressing VEGFR2- mediated AKT and ERK1/2 signaling pathways. *Angiogenesis*, 2012; 15: 421-32.
36. Koparal AT, Ulus G, Zeytinoglu M, Tay T, Turk AO. Angiogenesis inhibition by a lichen compound olivetoric acid. *Phytother Res*, 2010; 24: 754-8.
37. Seo C, Yim JH, Lee HK, Oh H. PTP1B inhibitory secondary metabolites from the Antarctic lichen *Lecidella carpathica*. *Mycology*, 2011; 2: 18-23.
38. Letai AG. Diagnosing and exploiting cancer's addiction to blocks in apoptosis. *Nat Rev Canc*, 2008; 8: 121-32.
39. Riedl SJ, Salvesen GS. The apoptosome: signalling platform of cell death. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007; 8: 405-13.
40. Basile A, Rigano D, Loppi S, Di Santi A, Nebbioso A, Sorbo S, et al. Antiproliferative, antibacterial and antifungal activity of the lichen *Xanthoria parietina* and its secondary metabolite parietin. *Int J Mol Sci*, 2015; 16 (4): 7861-75.
41. Singh N, Nambiar D, Kale RK, Singh RP. Usnic acid inhibits growth and induces cell cycle arrest and apoptosis in human lung carcinoma A549 cells. *Nutr Cancer*, 2013; 65: 36-43.
42. Nguyen TT, Yoon S, Yang Y, Lee HB, Oh S, Jeong MH, et al. Lichen secondary metabolites in *Flavocetraria cucullata* exhibit anti-cancer effects on human cancer cells through the induction of apoptosis and suppression of tumorigenic potentials. *PLoS One*, 2014; 31: 9 (10):e111575.

Gen terapisi yöntemleri: fiziksel ve kimyasal metotlar

Gene therapy techniques: physical and chemical methods

Azade ATTAR

ÖZET

Gen terapisi, genetik temeli bulunan hastalıkların tedavisinde stratejiler geliştirmek için kullanılan ve günümüzde tedavisi olmayan hastalıklar için umut vaat eden bir yöntemdir. Başarılı bir gen terapisi, ilgili transgenleri içeren plazmidlerin hedeflenmiş hücrelere transfeksiyonunu gerektirir. Gen tedavisi çalışmalarında karşılaşılan en önemli sorun olan DNA moleküllerinin hedef hücrelere ulaştırılması, bu alanda çalışan tüm araştırmacıları etkili bir yol bulmaya yöneltmiştir. DNA'nın hücrelere girme yeteneğinin kısıtlı oluşu ve DNA'nın enzimatik degradasyona uğrama ihtimali nedeniyle DNA transfeksiyonu çoğunlukla bir vektör aracılığıyla gerçekleştirilir. Bunlar, viral vektörler ve viral olmayan vektörler olarak iki gruba ayrılmaktadır. Adenovirüs, adeno-assosiyé virüs, herpes simpleks ve retrovirüsler viral vektörlerin başta gelen örnekleridir. Viral olmayan vektörler ise kendi içinde fiziksel ve kimyasal olarak ayrılırlar. Fiziksel metotlar; mikroenjeksiyon, partikül bombardımanı - gen tabancası, elektroporasyon, sonoporasyon, laser ışınması ve magnetofeksiyondur. Kimyasal metotlar ise viral vektörlere alternatif olarak ortaya çıkmış olan lipozomları kapsarlar. Bu vektörler, hücre çekirdeğine yapılacak gen transferini arttırmak amacıyla üç önemli özelliğe sahip olmalıdırlar. Bunlar DNA'nın negatif yükünü maskeleyerek, DNA molekülünü sıkıştırarak taşıyacağı kargoyu kompakt hale getirmek ve onu hücre

ABSTRACT

Gene therapy is used for developing strategies for the treatment of genetic diseases and it is a promising technique for people with incurable diseases. A successful gene therapy includes the transfection of plasmids with related transgenes into the target cells. The transfer of the DNA molecule to target cell is the main problem of the gene therapy studies which directed researchers to find an effective way of transfection. The transfection of DNA is commonly achieved by a vector because of the limited insertion ability of the DNA into the cells and the possibility of enzymatic degradation of DNA molecule. These vectors are grouped into two categories as viral and non-viral. Adenovirus, adeno-associated virus, herpes simplex and retrovirus are the main examples of viral vectors. Non-viral vectors are grouped into two as physical and chemical methods. The physical methods are microinjection, particle bombardment - gene gun, electroporation, sonoporation, laser beam and magnetofection. The chemical methods are consisted of liposomes which developed as an alternative to the viral vectors. These vectors must have three important features for the transfer of the related gene into the cell nucleus. Those are disguising the negative charge of the DNA, condensing the DNA molecule and protecting it from the intracellular nuclease activity.

Yıldız Teknik Üniversitesi, Davutpaşa Kampüsü, Kimya Metalürji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Esenler, İstanbul



İletişim / Corresponding Author : Azade ATTAR

Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalürji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, 34210 Esenler İstanbul - Türkiye
Tel : +90 212 383 46 49 E-posta / E-mail : azadeattar@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 01.06.2016
Kabul Tarihi / Accepted : 16.10.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.43255

Attar A. Gen terapisi yöntemleri: fiziksel ve kimyasal metotlar Türk Hij Den Biol Derg, 2017; 74(1): 103-112

içi nükleaz degradasyonundan korumaktır. Lipozomlar gibi viral olmayan transfeksiyon sistemleri virüslerden daha fazla tercih edilir. Çünkü bunlar immünojenik değildir, yapımı kolaydır ve endüstriyel üretim amacıyla ölçek büyütme işlemi daha basittir. Lipozomal taşıma araçları morfoloji ve salınım karakteristiği açısından çeşitlilik sağlar; doku hedeflemede kullanılabilir ve plazmid DNA'yı degradatif nükleazların saldırılarından koruyabilir. 1987'de potansiyel taşıma sistemi olarak tanımlanmalarından beri, DNA-katyonik lipid kompleksleri çeşitli hücre tiplerinde farklı DNA aktarım protokollerinde kullanılmıştır ve halen gen terapisinin klinik çalışmaları için araştırılmaktadır. Bu derleme, yeni ve gelecek vaat eden bir teknik olarak kanser ve genetik temelli hastalıkların tedavisinde kullanılması hedeflenen gen terapisindeki kimyasal ve fiziksel yöntemleri anlatmaktadır.

Anahtar Kelimeler: gen terapisi, lipozomal vektörler, plazmid DNA, gen transferi

Non-viral transfection systems such as liposomes are preferred rather than viruses, because of being non-immunogenic, ease in formation and simple scale-up process in industrial production. Liposomal vectors have a diversity in morphology and in release characteristics, which they can be used tissue targeting and they can protect plasmid DNA from the attacks of degradative nucleases. DNA - cationic lipid complexes were used in different DNA transfer protocols in various cell types since defined as a potential transfer system in 1987 and is still being researched for the clinical gene therapy studies. This review highlights the chemical and physical methods of gene therapy as a novel and promising technique for the treatment of cancer and genetic disorders.

Key Words: gene therapy, liposomal vectors, plasmid DNA, gene transfer

GİRİŞ

Moleküler biyolojideki son gelişmeler ve insan genomunun sekanslanması ile gen terapisi yöntemi genetik kaynaklı hastalıkların tedavisinde çok büyük bir önem kazanmıştır. Bu yeni tedavi yöntemi, mutasyona uğramış veya eksik olan genlerin yerine hedef hücrelere sağlıklı kopyaları vermek, ifadesini normal proteine yönlendirmek, doğru hücre fonksiyonları yenilemek gibi amaçları güder. Yeterli hedefleme yeteneği ve etkili transfeksiyon etkinliği olan güvenli gen terapi vektörlerinin geliştirilmesiyle bu yöntem insanlar üzerinde uygulanabilecektir (1). İdeal bir gen aktarım vektörünün sahip olması gereken özellikler hedef hücreye özgünlük, metabolik parçalanmaya ve immün sistem saldırılarına karşı direnç, minimal yan etkiler, terapötik geni ihtiyaç

duyulan süre boyunca belirli seviyede ifade etme yeteneği olarak özetlenebilir. Gen aktarım vektörleri iki kategoriye ayrılmaktadır:

1. Biyolojik vektörler
2. Kimyasal veya fiziksel yöntemler

İlk metot enfeksiyon olarak adlandırılan plazmid veya viral-aracılı prosesleri ifade eder. En çok kullanılan vektörler; klinik çalışmalarda denenmiş olan retrovirüsler ve adenovirüslerdir. Virüslerin avantajı yüksek transdüksiyon verimine sahip olmalarıdır ancak viral toksisite, konak immün cevabı ve hazırlanmasındaki zorluklar gibi istenmeyen birçok yan etkileri de vardır (2, 3). Viral olmayan gen transferi hücrelerin kimyasal veya fiziksel yoldan muamelesidir. Kimyasal metotlarda; DNA ile çeşitli

polikasyonlar (polipleksler) veya katyonik lipitler (lipopleksler) arasında kompleks oluşumu gerçekleştirir. Teknik olarak bu yaklaşım spesifik immün cevabı uyarmaz ve ölçek büyütme kolaydır. Buna karşın, etkinliği ve hedefleme potansiyeli zayıftır.

En basit ve güvenilir fiziksel / mekanik yaklaşım, sistemik kana veya lokal dokulara herhangi bir taşıyıcı olmaksızın çıplak DNA enjeksiyonudur. Fakat mononükleer fagositik sistem ve nükleazların hızlı degradasyonu nedeniyle çıplak DNA enjeksiyonundan sonra ifade seviyesi ve tedavi edilebilir doku alanı oldukça kısıtlıdır (4). Sonuç olarak, gen aktarım etkinliğini artırmak için yoğunlaşan ilgi diğer fiziksel manipülasyonlara dönmüştür. Bu metotlar, gen aktarım etkinliğinde önem taşıyan enjeksiyonlara DNA'nın etkili seyreltilmesi, hedef bölgeye ulaşabilme, hücreye ve çekirdeğe girme gibi çeşitli bariyerlerden atlama yeteneğine sahip elementleri içermelidir (5).

Gen aktarım vektörlerinin diğer kategorisi ise kimyasal ve fiziksel yöntemleri içerir. Fiziksel yöntemler DNA'nın doğrudan hücre içine gönderilmesini amaçlar. Bunlar; mikroenjeksiyon, partikül bombardımanı - gen tabancası metodu, elektroporasyon, sonoporasyon, laser ışıması ve magnetofeksiyondur. Kimyasal yöntemler ise lipozom aracılı gen transferini içermektedir. Lipozom aracılı gen transferi anyonik lipozomlar, katyonik lipozomlar ve arkeozomlar olarak gruplandırılır.

Mikroenjeksiyon

İster sitoplazmayı ister çekirdeği hedeflesin, DNA'yı hücre içine sokmanın en direkt yolu mikroenjeksiyonudur. Tek bir hücreye uygulanan bu mikrooperasyon prosedüründe cam bir iğne (mikrokapiler pipet), mikropipetin hareketini kontrol etmek için bir mikromanipulator ve bir mikroenjektör kullanılır. Hidrostatik basınçla mikropipete çekilmiş olan genetik materyali içeren sıvı püskürtülür. Enjeksiyonlar, mikroskop aracılığıyla gözlemlenir. Bu teknik ilk olarak 1980 yılında başarıyla uygulanmıştır. Capecchi (6), DNA'yı kültüre

edilmiş memeli hücrelerinin hem çekirdeğine hem de sitoplazmasına mikroenjekte etmiştir. Çıplak DNA'nın direkt olarak çekirdeğe mikroenjeksiyonu, sitoplazmik degradasyonu önler; böylece sitoplazma içi enjeksiyonundan daha yüksek gen ifadesi sağlanır. Fertilize fare oositlerinin pronükleilerine plazmid DNA mikroenjeksiyonu ile transgenik fare üretilmiştir (7, 8) ve günümüzde bu yaklaşım transgenik hayvan üretiminde fare (9), minyatür domuz (10) ve sığır (11) en çok uygulanan metottur.

DNA'nın pronükleer enjeksiyonu çok etkili ve bir o kadar da zahmetli bir prosedürdür. Bir enjeksiyonun tek bir hücreyi kapsadığı düşünüldüğünde; her seferinde birkaç yüz hücreyi transfer etmek için ne kadar uygulama gerektiği anlaşılacaktır. Gen transfer prosesinin basitleştirilmesi ve etkinliğinin artırılması için diğer fiziksel teknikler keşfedilmiştir.

Partikül Bombardımanı - Gen Tabancası Metodu

Gen aracılı partikül bombardımanı, diğer adıyla gen tabancası metodunun ardında yatan düşünce hızlandırılmış bir partikül taşıyıcıyla hedef hücrelere çıplak DNA yollamaktır. Teknik ilk olarak 1987'de bitki hücrelerindeki transgen ifadesinin zorluğunun üstesinden gelmek için kullanılmıştır (12). 1990'larda ise memeli hücreleri ve canlı dokulara kadar genişlemiştir (13, 14).

Biyolistik (biyoloji ve balistiğin birleşimi) aktarım; hedef hücrelere yeterli hızda ağır metal partiküllerini sürükleme yöntemini kullanır. İvme, yüksek elektrik voltajı veya helyum deşarjı ile sağlanır. Partiküllerin toksik veya reaktif olmaması, hedef hücrenin çapından küçük (çoğunlukla 1-1,5 µm) olması gereklidir. Çıplak DNA, bu mikropartiküllerin üzerine çöktürülüp hücre içinde port-bombardıman ile serbest bırakılır. Metodun orijinalinde, DNA ile kaplanmış tungsten partiküllerini plazma membranına sokmak ve gen ifadesi sağlamak için gunpowder ivme sistemi kullanılır (12). Farklı tipte araçlar geliştirilmiştir ki bunlardan en çok kullanılanı altın küreciklerdir.

Bu teknolojinin en yaygın olarak uygulandığı durum, deriyi hedef alan genetik immünizasyondur (15). Gen tabancası metodu, primer olarak etkili DNA immünizasyonunun gerçekleştiği epidermis üzerine DNA kaplı kürecikleri sürükler (16). Bu yaklaşım genetik aşılama, immünomodülasyon ve kanser tedavisinde intihar gen terapisi için kullanılmaktadır (17).

Bu tekniğin etkinliği, partiküllere yüklenen DNA miktarı, partikül büyüklüğü ve aktarımın zamanlaması gibi çeşitli parametrelere bağlıdır. Buna ilaveten, DNA kaplı küreciklerin dağılımı gen tabancası ile uygulanan ivmenin iyi ayarlanmasına bağlıdır (18). Alınacak cevap, taşınan DNA kaplı küreciklerin sayısına ve partiküllerin plazmid ile kaplanma seviyesine bağlıdır.

Elektroporasyon

DNA'yı hücre içine sokmak için sıkça kullanılan fiziksel araç elektrik alanıdır. Elektroporasyon olarak bilinen bu teknik, hücre membranını elektrik akımına maruz bırakarak geçici, bölgesel destabilizasyona sebep olur. Bu düzensizlik sırasında hücre membranı dış kaynaklı moleküllere geçirgen hale gelir. Hücre membranının geçirgenliğindeki bu geçici artışın elektrik alan tarafından indüklenen porların oluşumu sonucunda gerçekleştiğine inanılmaktadır. Kırmızı kan hücrelerinde oluşan porlar dondurup kırma elektron mikroskopisi ile incelendiğinde; büyüklüklerinin 20 ile 120 nm olduğu görülmüştür (19). Bu geçirgenliğin oluşması için kritik, eşik değeri bir seviyede elektrik akım uygulanması gereklidir. Bu akım, bir hücre süspansiyonu için 1 V (19, 20) iken akımın genişliği ve membranın kompozisyonu gibi etkenlerle değişiklik gösterir. Gen transferinin elektroporasyon ile gerçekleşebileceği Neumann ve ark., (21) tarafından fare lyoma hücreleri kullanılarak ispatlanmıştır. *In vivo* gen transferi 1990'ların başında başlamış ve 1996'ya kadar geniş biçimde araştırılmıştır (22, 23).

Elektroporasyonu etkileyen faktörler fiziksel (akımın süresi ve gücü) ve biyolojik (DNA konsantrasyonu ve konformasyonu, hücre

büyükülüğü) olabilir (20). Her hücre tipi için en uygun elektroporasyonu sağlayacak koşullar farklıdır. Farklı büyüklükteki moleküller için farklı elektroporasyon koşulları gereklidir. Küçük antikanser ilaçlarının aktarımında kısa akım (100 μ s) ve yüksek güçte elektrik alan (> 700 V/cm) en iyi sonucu verirken gen transferi için uzun akım (20-60 ms) ve düşük güçte elektrik alan (100-200 V/cm) tercih edilir (24). Akım süresi uzadıkça oluşan porların büyüklüğünün ve açık kalma süresinin de arttığı düşünülmektedir.

Sonoporasyon

Ultrason uygulamasıyla hücre geçirgenliğinin artırılmasıdır. Ultrason geniş bir yelpazede; dalga formuna ve sıklığına sahiptir; fakat en yoğun ilgi megahertz sıklığındaki sinusoidal problemlerle uygulanan sonoporasyon üzerinde toplanmıştır. Daha düşük sıklıktaki dalgalar (örneğin 20 kHz) hücre lizisi ve parçalanması için kullanılırken daha yüksek yoğunluktaki şok dalgaları böbrek taşı kırma için kullanılır.

Sonoporasyonda rol oynayan mekanizmanın akustik kaviteasyon olduğu düşünülmektedir. Kaviteasyon, mekanik düzensizliğe ve aktif baloncukların yığılmasına sebep olur ve enerji çıkışı bitişik hücre membranlarının geçirgenliğini artırır. Bu alandaki ilk gen aktarım çalışmaları 1990'ların ortalarında bildirilmiştir (25, 26). Ultrason aracılı gen transferini etkileyen faktörler: transformatör, akustik basınç ve akım süresidir. Kalma süresinin de arttığı düşünülmektedir.

Laser İşması

Gücü bir akım jeneratörü ile kontrol edilen bir laser kaynağı (örneğin neodimiyum-yttrium-aluminyum garnet (Nd:YAG) (27), argon iyonu (28), holmiyum (29), titanyum safir (30) ile hedef hücrelere laser atışı yapma esasına dayanır. Laser ışını genellikle bir lens aracılığıyla hedef hücrelere odaklanır. Hücre membranının geçirgenliği, lokal termal bir etkiyle ışın şokunun olduğu bölgede modifiye olur. Bu düzensizlik,

besiyeri ortamında mevcut olan bir genin hücre içine transfer olması için yeterlidir. Etkisi, besiyeri ortamı ile sitoplazma arasındaki ozmatik basınç farkına bağlıdır (28). Laser ışımalarının hücre membranında geçici porlar oluşturduğuna dair raporlar bildirilmiştir; bunlar oldukça büyük (yaklaşık 2 µm çapında), fakat çok kısa bir zamanda kapanan türdendir.

Laser kaynağının fiziksel büyüklüğü ve yüksek maliyeti nedeniyle günümüzde laser ışımaları ile gen aktarımı yaygın olarak kullanılmamaktadır. Bu metotla yapılan gen aktarım çalışmaları ilk olarak 1980'lerde bildirilmiştir (27, 31). 2000'li yıllarda, femto-second infrared laser kullanılarak yapılan *in vivo* gen transferi uygulanmıştır (30). Bu yöntemin transfeksiyon etkinliği, enerji seviyesi, akım sayısı ve akım süresi gibi bir takım parametrelere bağlıdır.

Magnetofeksiyon

Magnetofeksiyon, gen vektörlerinin hücrelere girişini artıran bir metottur (32). Manyetik nanopartikülleri DNA ile ve hatta transfeksiyon reaktifi ile bir araya getirme fikriyle ortaya çıkmıştır. Kullanılan nanopartiküller; polimer kaplı, biyolojik olarak bozunabilir demir oksitten yapılır. Bunların gen vektörleri ile bağlanması, tuz ile indüklenmiş koloidal çöktürme ile gerçekleşir. Manyetik partiküller, oluşturulan dış kaynaklı bir manyetik alanın etkisiyle hedef hücrelere yoğunlaşır. Bu teknolojinin genetik materyalin hedef hücre yüzeyine hatta içine aktarılmasına olanak sağladığı çevresel dokulardaki manyetik partiküllerin ekstrasvasyonu (damardan fışkırtma) gösterilerek ispatlanmıştır (33). Sebebi, manyetik alanın manyetik partikülleri plazma membranından hücrenin içine doğru çekmesi olabilir. DNA, sitoplazmada serbestleşir ve manyetik partiküllerin hücresel fonksiyonları etkilemeyeceği düşünülmektedir. Bu yöntem, viral olan veya viral olmayan vektörlerle yapılan standart transfeksiyon prosedürünün etkisini artırır; DNA vektörü bir manyetik partikül ile kompleks oluşturmadığı takdirde manyetik alan tek başına etkili olamaz.

Magnetofeksiyon endotelial hücreler gibi primer hücre kültürlerini transfekte etmekte uygun olabilir (32, 34). *In vitro* olarak yüksek etkinlik göstermekte olan yöntem *in vivo* olarak da gastrointestinal sistem ve kan damarlarında lokal transfeksiyon göstermiştir (32). Magnetofeksiyon, *in vitro* ve *in vivo*'da antisens oligonükleotitlerin aktarımında başarıyla uygulanmıştır (34).

Lipozom Aracılı Gen Transferi

Fiziksel metotların en önemli avantajı genetik materyalin hücrelere direkt olarak aktarılabilmesidir. Bu durum fiziksel metotları kesin bir çizgiyle lipofeksiyon-polifeksiyon gibi viral olmayan gen transfer teknolojilerinden ayırır. Sentetik bir vektörle gen aktarımı hücrenin bağlanması, endositoz ve endositik veziküllerin girişi, endozomun lizozoma olgunlaşması, veziküler kompartmanlardan ayrılması, çekirdek çeperine doğru göç, lipit-aracılı gen transferinde lipit ile DNA'nın ayrılması ve son olarak DNA'nın çekirdeğe girişi ile gerçekleşir. Böylece transfeksiyon etkinliği çeşitli bariyerlerle sınırlanmış olur (35). Lipozomun bileşimi, enkapsülasyon oranı, lipit vezikülün büyüklüğü ve yüzey yükü lipozomların transfeksiyon etkinliğinde rol oynayan önemli faktörlerdir (36). Nükleer lokalizasyon sinyalleri kullanılarak DNA'nın sitosoldan çekirdeğe hareketi artırılmaktadır (37). Endozomal salınımı artırmak için farklı stratejiler adapte edilerek (örneğin fotokimyasal internalizasyon) gen ifadesi kinetiklerinin ivme kazanması amaçlanmıştır.

Katyonik Lipozomlar

Katyonik lipit veya polimer aracılığıyla gen transferi hücre türüne bağlıdır. Örneğin, primer kültür hücrelerinden bazıları (primer nöronlar, primer dendritik hücreler ve primer endotelial hücreler) katyonik lipitlerin de dahil olduğu geleneksel viral olmayan transfeksiyon metotlarına dirençlidir. Bu durum, büyük ölçüde endositozun hücre türüne bağlı olmasından kaynaklanır (35, 36). Kompleks

formülasyonlarının lipopleks büyüklüğü, yükü ve DNA/vektör dağılımı gibi fizikokimyasal parametreler transfeksiyon etkinliğini etkiler. Bunun aksine fiziksel teknikler, plazma membranından direkt gen transferinin sağlanması nedeniyle hücre tipine bu derece bağlı değildir.

Katyonik lipit ajanlar kullanılarak gerçekleştirilen lipofeksiyon işlemi (kültüre edilmiş hücrelerde katyonik lipitli ortamda DNA transferi), monokatyonik lipit ajanın polikatyonik biri ile yer değiştirmesi ile geliştirilmiştir (38). Bu metot, DNA'nın iyonik etkileşimine ve kültüre edilmiş hücrelerde DNA'yı fonksiyonel olarak koruyabilen komplekslerden lipozomlara dayanır. Yani lipozomlar aracılığı ile yapılan gen transferidir. Katyonik lipit ajanlar, sulu çözeltilerde küçük unilamellar lipozomlar oluştururlar. Lipozomların pozitif yükü nükleik asit ve hücre membranında etkileşmesini sağlar; böylece lipozom/nükleik asit/hücre membran kompleksi (transfeksiyon kompleksi) oluşur. DNA lipozomların içine enkapsüle olmaz fakat negatif yüklü olduğu için lipozomlara bağlanarak kompleksler oluşturur (39). Bu kompleks, endozomlardan ve lipozomlardan salınır. DNA-lipit oranı, inkübasyon süresi, serum varlığı, antibiyotik varlığı, hücre kültürünün durumu, hücre yoğunluğu, promotör seçimi ve DNA kalitesi her hücre hattı için optimize edilmelidir.

Anyonik Lipozomlar

Bazı çalışmalar; katyonik lipozomlara alternatif olarak anyonik lipozomal aktarım vektörlerinin kullanıldığını bildirmektedir (40-42). Anyonik lipozomlar önceleri DNA'nın hücreler arası reseptör aracılı olmayan transportunda hücre yüzeyinin stimülasyonu için model olarak kullanılmaktaydı (43). Günümüzde anyonik lipozomlar, DNA enkapsülasyonunda kullanılmaktadır. Enkapsülasyondan önce pozitif yüklü polilizin eklenerek negatif yüklü DNA'nın küçük kompleksler oluşturması sağlanır.

Patil ve ark., (42); DNA transfeksiyonu için anyonik lipozomal sistemlerden yararlanarak yaptıkları çalışmada; anyonik lipitlerin DNA aktarımı ve ifade etkinliğini araştırmıştır (42). Çalışma, Ca^{+2} aracılığıyla plazmid DNA ile fizyolojik orijinli lipitlerden oluşturulan kompleksin anyonik lipozomal taşıma vektörü olarak tasarlanmasını ve kullanılmasını içerir. Çalışmada anyonik lipozomların Ca^{+2} iyonları ile bağlanarak yüksek miktarda DNA'yı hapsedebildiği gösterilmiştir. Oluşturulan lipopleksler yeşil floresan proteini (GFP) plazmidini Çin hamster yumurtalık K-1 (CHO-K1) hücrelerine düşük seviyede toksisite ile taşımıştır. Ca^{+2} gibi divalent katyonların anyonik lipozomal sistemlerde füzyonu indüklemeye mekanizması (-) yüklü lipidin yüzey yükünün nötralizasyonu ile ilişkilidir. Yüzey yükünün nötralizasyonu, yüklü lipit türlerine göre daha az etkili bir uç grubun oluşmasına yol açar. Redüklenmiş yüzey yükü interveziküler elektrostatik çekimi de redükleyerek füzyon için gerekli aggregasyon basamağını organize eder. Bu olay, yük nötralizasyon etkisi olarak bilinir. Anyonik lipopleksler, Ca^{+2} köprüleri aracılığıyla plazmid DNA iskeletindeki fosfatlar ile lipozomların yüzeylerindeki anyonik rezidülerin etkileşimi sonucu oluşur. Ca^{+2} artışı, lipozomlarla kompleks oluşturan DNA miktarını ve transfeksiyon etkinliğini artırabilir (44).

Anyonik lipozom formülasyonları DNA aktarımı amacıyla oligonükleotitlerin hippokampal nöronlara (41) ve bakteri hücrelerine (40) transferinde kullanılmıştır. Fakat bu çalışmalar, DNA'nın anyonik lipozom içine yeterli miktarda hapsedilememesi ve toksisite verilerinden yoksun olması nedeniyle kısıtlıdır. Bu iki negatif yüklü türün arasındaki itici elektrostatik etkileşimden kaynaklanan yetersiz birleşmenin üstesinden gelmek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır (45). Literatürdeki bu veriler ışığında anyonik lipozomlarla elde edilmiş başarılı transfeksiyon sonuçları da rapor edilmiştir (42, 46).

Arkeozomlar

Aşırı habitatlara uyum sağlamış olan arkaik mikroorganizmaların proteinleri yüksek sıcaklık, yüksek tuz konsantrasyonu, organik çözücüler ve yüzey aktif maddelerin varlığında üç boyutlu yapısını kaybetmez ve fonksiyoneldir (47). Arkeal lipid formülasyonlarının da oldukça yüksek kararlılıkta oksidatif stres, yüksek sıcaklık, alkali pH, fosfolipaz aktivitesi, safra tuzları ve serum ortamında bulunabildiği gösterilmiştir (48, 49). Arkeal lipid özellikleri sayesinde arkeozomlar her sıcaklıkta oluşturulabilmektedir, böylece termal olarak kararsız bileşikler en kapsüle etmeyi sağlar. Yüksek kararlılıkları arkeozomların sterilize ve filtre edilebilmesini sağlar (50). *In vitro* ve *in vivo* çalışmalar; arkeozomların güvenli olduğunu, farelerde toksisite göstermediğini ispatlamıştır (51). Arkeozomların biyoyoumluluğu ve yüksek kararlılıkları üretim aşamasında ve aşı, ilaç, gen aktarımı gibi biyoteknolojik uygulamalarda avantaj sağlar. Arkeozomlar, bu özelliklerinden ötürü DNA transferinde umut vaat etmektedirler. Arkeal lipidlerden elde edilen polar, lipid fraksiyonu kullanılarak hazırlanan arkeozomların *in vitro* transfeksiyon etkinliği nötral arkeal lipidlere oranla daha yüksektir. Halofilik arkelerin polar lipitlerinden elde edilen lipozomların total lipitlerden hazırlanan lipozomlara göre daha dayanıklı olduğu bildirilmiştir (52).

Bazı arkeozomların anyonik olmaları nedeniyle plazmid DNA ile kompleks oluşturma eğilimleri düşüktür, bu nedenle *in vitro* transfeksiyon deneylerinde DOTAP, polibren, kitozan, CaCl₂, LiCl gibi katyonik bileşiklerden yararlanılabilir. Bir transfeksiyon reaktifi olan DOTAP ile arkeozomların birlikte kullanılması pahalı bir ürün olan DOTAP'ın daha az kullanılmasını sağlayabilmektedir (46). Polibren (53) ve kitozan (54) gibi polimerlerin DNA'ya bağlandığı ve memeli hücrelerinde değişen seviyelerde transfeksiyon etkinliği gösterdiği belirtilmiştir. Yine de, lipozomlar viral olmayan

gen transferi vektörleri içinde en yaygın olarak kullanılanlardır (55). Mansouri ve ark., (56) yayınladıkları çalışmada kitozan gibi katyonik polimerlerin DNA ile kompleks oluşturabileceğini ve viral olmayan vektör olarak gen terapisinde kullanılabileceğini belirtmiştir. Kitozan doğal ve toksik olmayan bir polisakkarit olması nedeniyle biyoyoumlu ve biyobozundur ve DNA'yı DNaz aktivitesine karşı korur.

Ticari lipozomların düşük pH ve safra tuzlarına karşı zayıf kararlılık sergilemesi, lipozomların özellikle oral yoldan verilmesinde aşılması gereken başlıca sorunlardan biridir. Li ve ark., (57) peptit ilaçlarının ağız yoluyla verilmesinde arkeozomların taşıyıcı olarak kullanılması üzerine yaptıkları çalışmada; arkeozomların ticari lipozomlardan daha kararlı olduğunu göstermiştir (57). Danis ve ark., (58) ise halofilik bir arkeden elde ettikleri polihidroksi bütiratı kullanarak başarılı ilaç taşınımı ve salınımı sağlamışlardır. Arkeozomların geleneksel lipozomlardaki fosfat esterleri yerine eter bağlı fosfolipidlere sahip olmaları onları daha kararlı yapılar haline getirmektedir. Bu nedenle, arkeozomlar sadece aşı olarak kullanılacak çeşitli peptit antijenlerin ve ilaçların taşınmasında değil aynı zamanda DNA moleküllerinin transferi için de önemli bir potansiyele sahiptir.

SONUÇ

Gen terapi, farmasötik bir genin tedavi amacıyla insan hücrelerine girmesini sağlayan stratejidir. Günümüzde tedavisi bulunmayan veya kalıtsal olarak nesilden nesile aktarılan hastalıkların tedavisinde kullanılması hedeflenen gen terapi yöntemi, gelecekte birçok insanın sağlıklı yaşaması için umut vaat etmektedir. İlaç niteliğindeki fonksiyonel genlerin canlıya aktarımı bu stratejiyi kısıtlayan en önemli etkidir. Bu nedenle, dünya üzerinde birçok araştırmacı 1980'lerden bu yana; transgenleri aktarma metotları üzerine çalışmakta ve uygun vektörlerin araştırmasını yapmaktadır. Uzun yıllar

viral vektörler kullanılmış olsa da bu vektörlerin büyüklük olarak gen taşıma kapasitesinin az olması, virüslerin hastalık yapıcı olmaları ve immün sistemi tetikleyici etkileri araştırmacıları daha etkin ve güvenilir vektörler bulmaya yöneltmiştir. Bu sayede ortaya çıkan viral olmayan vektörler, fiziksel ve kimyasal yöntemleri kapsar. İlk kimyasal yöntemler, lipozomlar kullanılarak yapılmıştır. Klasik transfeksiyon yöntemlerinin, düşük verimlilik

veya hücre toksisitesi gibi sorunlarına karşın katyonik lipit ajanlar pek çok ökaryotik hücrenin transfeksiyonunda etkindirler. Diğer yöntemlere oranla virüsler, proteinler, sentetik oligonükleotitler ve RNA ile yüklenerek transfekte olabilmeleri diğer bir avantajlarıdır. Bu özellikleri sayesinde lipozom aracılı gen transferi çalışmaları halen geliştirilmeye devam etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Mehier-Humbert S, Guy, RH. Physical methods for gene transfer: Improving the kinetics of gene delivery into cells. *Adv Drug Deliv Rev*, 2005; 57: 733-53. Doi:10.1016/j.addr.2004.12.007.
2. Chuah MK, Collen D, VandenDriessche T. Biosafety of adenoviral vectors. *Curr Gene Ther*, 2003; 6: 527-43. Doi:10.2174/1566523034578140.
3. Gallo-Penn AM, Shirley PS, Andrews JL, Tinlin S, Webster S, Cameron C, et al. Systemic delivery of an adenoviral vector encoding canine factor VIII results in short-term phenotypic correction, inhibitor development, and biphasic liver toxicity in hemophilia a dogs. *Blood*, 2001; 97: 107-13. Doi: 10.1182/blood.V97.1.107.
4. Lechardeur D, Sohn KJ, Haardt M, Joshi PB, Monck M, Graham RW, et al. Metabolic instability of plasmid DNA in the cytosol: A potential barrier to gene transfer. *Gene Ther*, 1999; 6: 482-97.
5. Ibraheem D, Elaissari A, Fessi H. Gene therapy and DNA delivery systems. *Int J Pharm*, 2014; 459: 70-83. Doi: 10.1016/j.ijpharm.2013.11.041.
6. Capecchi MR. High efficiency transformation by direct microinjection of DNA into cultured mammalian cells. *Cell*, 1980; 22: 479-88. Doi: 10.1016/0092-8674(80)90358-X.
7. Gordon JW, Scangos GA, Plotkin DJ, Barbosa JA, Ruddle FH. Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1980; 77: 7380-4.
8. Gordon JW, Ruddle FH. Gene transfer into mouse embryos: Production of transgenic mice by pronuclear injection. *Methods Enzymol*, 1983; 101: 411-33. Doi: 10.1016/0076-6879(83)01031-9.
9. Auerbach AB. Production of functional transgenic mice by DNA pronuclear microinjection. *Acta Biochim Pol*, 2004; 51: 9-31.
10. Uchida M, Shimatsu Y, Onoe K, Matsuyama N, Niki R, Ikeda JE, et al. Production of transgenic miniature pigs by pronuclear microinjection. *Transgenic Res*, 2001; 10 (6): 577-82. Doi: 10.1023/A:1013059917280.
11. Hofmann A, Zakhartchenko V, Weppert M, Sebald H, Wenigerkind H, Brem G, et al. Generation of transgenic cattle by lentiviral gene transfer into oocytes. *Biol Reprod*, 2004; 71 (2): 405-9. Doi: 10.1095/biolreprod.104.028472.
12. Klein TM, Wolf ED, Wu R, Sanford JC. High-velocity microprojectiles for delivering nucleic acids into living cells. *Nature*, 1987; 327: 70-3. Doi: 10.1038/327070a0.
13. Yang NS, Burkholder J, Roberts B, Martinell B, McCabe D. In vivo and in vitro gene transfer to mammalian somatic cells by particle bombardment. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; 87 (24): 9568-72.
14. Williams RS, Johnston SA, Riedy M, DeVit MJ, McElligott SG, Sanford JC. Introduction of foreign genes into tissues of living mice by DNA-coated microprojectiles. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991; 88 (7): 2726-30.
15. Wang S, Joshi S, Lu S. Delivery of DNA to skin by particle bombardment. *Methods Mol Biol*, 2004; 245: 185-96. Doi: 10.1385/1-59259-649-5:185.
16. Lu B, Scott G, Goldsmith LA. A model or keratinocyte gene therapy: Preclinical and therapeutic considerations. *Proc Assoc Am Physicians*, 1996; 108 (2): 165-72.

17. Lin MT, Pulkkinen L, Uitto J, Yoon K. The gene gun: Current applications in cutaneous gene therapy. *Int J Dermatol*, 2000; 39 (3): 161-70. Doi: 10.1046/j.1365-4362.2000.00925.x.
18. Uchida M, Natsume H, Kobayashi D, Sugibayashi K, Morimoto Y. Effects of particle size, helium gas pressure and microparticle dose on the plasma concentration of indomethacin after bombardment of indomethacin-loaded poly-lactic acid microspheres using a helios gun system. *Biol Pharm Bull*, 2002; 25 (5): 690-3. Doi: 10.1248/bpb.25.690.
19. Chang DC. Structure and Dynamics of Electric Field-Induced Membrane Pores as Revealed by Rapid-Freezing Electron Microscopy. In: Chang DC, Chassy BM, Saunders JA, Sowers AE, eds. *Guide to Electroporation and Electrofusion*, Academic Press, Inc. San Diego, 1992.
20. Gehl J. Electroporation: Theory and methods, perspectives for drug delivery, gene therapy and research. *Acta Physiol Scand*, 2003; 177 (4): 437-47. Doi: 10.1046/j.1365-201X.2003.01093.x.
21. Neumann E, Schaefer-Ridder M, Wang Y, Hofschneider PH. Gene transfer into mouse lymphoma cells by electroporation in high electric fields. *EMBO J*, 1982; 1 (7): 841-5.
22. Heller R, Jaroszeski M, Atkin A, Moradpour D, Gilbert R, Wands J, et al. In vivo gene electroinjection and expression in rat liver. *FEBS Lett*, 1996; 389 (3): 225-8. Doi: 10.1016/0014-5793(96)00590-x.
23. Nishi T, Yoshizato K, Yamashiro S, Takeshima H, Sato K, Hamada K, et al. High-efficiency in vivo gene transfer using intraarterial plasmid DNA injection following in vivo electroporation. *Cancer Res*, 1996; 56 (5): 1050-5.
24. Rabussay D, Dev NB, Fewell J, Smith LC, Widera G, Zhang L. Enhancement of therapeutic drug and DNA delivery into cells by electroporation. *J Phys D: Appl Phys*, 2003; 36: 348-63. Doi: 10.1088/0022-3727/36/4/305.
25. Kim HJ, Greenleaf JF, Kinnick RR, Bronk JT, Bolander ME. Ultrasound-mediated transfection of mammalian cells. *Hum Gene Ther*, 1996; 7 (11): 1339-46. Doi: 10.1089/hum.1996.7.11-1339.
26. Bao S, Thrall BD, Miller DL. Transfection of a reporter plasmid into cultured cells by sonoporation in vitro. *Ultrasound Med Biol*, 1997; 23 (6): 953-9. Doi: 10.1016/S0301-5629(97)00025-2.
27. Tao W, Wilkinson J, Stanbridge EJ, Berns MW. Direct gene transfer into human cultured cells facilitated by laser micropuncture of the cell membrane. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987; 84 (12): 4180-4.
28. Palumbo G, Caruso M, Crescenzi E, Tecce MF, Roberti G, Colasanti A. Targeted gene transfer in eucaryotic cells by dye-assisted laser optoporation. *J Photochem Photobiol B: Biol*, 1996; 36 (1): 41-6. Doi: 10.1016/S1011-1344(96)07335-6.
29. Sagi S, Knoll T, Trojan L, Schaaf A, Alken P, Michel MS. Gene delivery into prostate cancer cells by holmium laser application. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2003; 6 (2): 127-30. Doi: 10.1038/sj.pcan.4500653.
30. Zeira E, Manevitch A, Khatchatourians A, Pappo O, Hyam E, Darash-Yahana M, et al. Femtosecond infrared laser-an efficient and safe in vivo gene delivery system for prolonged expression. *Molec Ther*, 2003; 8 (2): 342-50. Doi: 10.1016/S1525-0016(03)00184-9.
31. Kurata S, Tsukakoshi M, Kasuya T, Ikawa Y. The laser method for efficient introduction of foreign DNA into cultured cells. *Exp Cell Res*, 1986; 162 (2): 372-8. Doi: 10.1016/0014-4827(86)90342-3.
32. Scherer F, Anton M, Schillinger U, Henke J, Bergemann C, Kruger A, et al. Magnetofection: Enhancing and targeting gene delivery by magnetic force in vitro and in vivo. *Gene Ther*, 2002; 9 (2): 102-9. Doi: 10.1038/sj/gt/3301624.
33. Goodwin SC, Bittner CA, Peterson CL, Wong G. Single-dose toxicity study of hepatic intra-arterial infusion of doxorubicin coupled to a novel magnetically targeted drug carrier. *Toxicol Sci*, 2001; 60 (1): 177-83. Doi: 10.1093/toxsci/60.1.177.
34. Krötz F, Sohn HY, Gloe T, Plank C, Pohl U. Magnetofection potentiates gene delivery to cultured endothelial cells. *J Vasc Res*, 2003; 40 (5): 425-34. Doi: 10.1159/000073901.
35. Kedika B, Patri SV. Benzothiazole head group based cationic lipids: synthesis and application for gene delivery. *Eur J Med Chem*, 2014; 74: 703-716. Doi: 10.1016/j.ejmech.2013.08.034.
36. Renukuntla J, Vadlapudi AD, Patel A, Boddu SH, Mitra AK. Approaches for enhancing oral bioavailability of peptides and proteins. *Int J Pharm*, 2013; 447: 75-93. Doi: 10.1016/j.ijpharm.2013.02.030.
37. Hebert E. Improvement of exogenous DNA nuclear importation by nuclear localization signal-bearing vectors: a promising way for non-viral gene therapy. *Biol Cell*, 2003; 95 (2): 59-68. Doi: 10.1016/S0248-4900(03)00007-8.
38. Ciccarone V, Hawley-Nelson P, Jessee J. Cationic liposome-mediated transfection: Effect of serum on expression and efficiency. *Focus*, 1993; 15 (3): 80-3.

39. Balbino TA, Azzoni AR, de La Torre LG. Microfluidic devices for continuous production of pDNA/cationic liposome complexes for gene delivery and vaccine therapy. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2013; 111: 203-210. Doi: 10.1016/j.colsurfb.2013.04.003.
40. Fillion P, Desjardins A, Sayasith K, Lagace J. Encapsulation of DNA in negatively charged liposomes and inhibition of bacterial gene expression with fluid liposome-encapsulated antisense oligonucleotides. *Biochim Biophys Acta*, 2001; 1515: 44-54. Doi: 10.1016/S0005-2736(01)00392-3.
41. Lakkaraju A, Dubinsky JM, Low WC, Rahman Y-E. Neurons are protected from excitotoxic death by p53 antisense oligonucleotides delivered in anionic liposomes. *J Biol Chem*, 2001; 276: 32000-7. Doi: 10.1074/jbc.M100138200.
42. Patil SD, Rhodes DG, Burgess DJ. Anionic liposomal delivery system for DNA transfection. *The AAPS Journal*, 2004; 6 (4): 1-10. Doi: 10.1208/aapsj060429.
43. Akhtar S, Basu S, Wickstrom E, Juliano RL. Interactions of antisense DNA oligonucleotide analogs with phospholipid membranes (liposomes). *Nucleic Acids Res*, 1991; 19: 5551-9. Doi: 10.1093/nar/19.20.5551.
44. Tari AM, Fuller N, Boni LT, Collins D, Rand P, Huang L. Interactions of liposome bilayers composed of 1,2-diacyl-3-succinylglycerol with protons and divalent cations. *Biochim Biophys Acta*, 1994; 1192: 253-62. Doi: 10.1016/0005-2736(94)90126-0.
45. Perrie Y, Gregoriadis G. Liposome-entrapped plasmid DNA: Characterization studies. *Biochim Biophys Acta*, 2000; 1475: 125-32. Doi: 10.1016/S0304-4165(00)00055-6.
46. Attar A, Ogan A, Yucel S, Turan K. The potential of archaeosomes as carriers of pDNA into mammalian cells. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2016; 44: 710-6. Doi: 10.3109/21691401.2014.982800.
47. Ozgen M, Attar A, Elalmis Y, Birbir M, Yucel S. Enzymatic activity of a novel halotolerant lipase from *Haloarcula hispanica* 2TK2. *Pol J Chem Tech*, 2016; 18: 20-25. Doi: 10.1515/pjct-2016-0024.
48. Benvegnu T, Rethore G, Brard M, Richter W, Plusquellec D. Archaeosomes based on novel synthetic tetraether-type lipids for the development of oral delivery systems. *Chem Commun*, 2005; 44: 5536-8. Doi: 10.1039/B511440C.
49. Brard M, Laine C, Rethore G, Laurent I, Neveu C, Lemiegre L, et al. Synthesis of archaeal bipolar lipid analogues: a way to versatile drug/gene delivery systems. *J Org Chem*, 2007; 72: 8267-79. Doi: 10.1021/jo071181r.
50. Moghimipour E, Kargar M, Ramezani Z, Handali S. The potent in vitro skin permeation of archaeosome made from lipids extracted of *Sulfolobus acidocaldarius*. *Archaea*, 2013; Article ID 782012, 7 pages. Doi: 10.1155/2013/782012.
51. Omri A, Agnew BJ, Patel GB. Short-term repeated-dose toxicity profile of archaeosomes administered to mice via intravenous and oral routes. *Int J Toxicol*, 2003; 22: 9-23. Doi: 10.1080/10915810305080.
52. Krishnan L, Dicaire CJ, Patel GB, Sprott GD. Archaeosome vaccine adjuvants induce strong humoral, cell-mediated, and memory responses: comparison to conventional liposomes and alum. *Infect Immun*, 2000; 68: 54-63. Doi: 10.1128/IAI.68.1.54-63.2000.
53. Mumper RJ, Duguid JG, Anwer K, Barron MK, Nitta H, Rolland AP. Polyvinyl derivatives as novel interactive polymers for controlled gene delivery to muscle. *Pharm Res*, 1996; 13: 701-9. Doi: 10.1023/A:1016039330870.
54. Corsi K, Chellat F, Yahia L, Fernandes JC. Mesenchymal stem cells, MG63 and HEK293 transfection using chitosan-DNA nanoparticles. *Biomaterials*, 2003; 24: 1255-64. Doi: 10.1016/S0142-9612(02)00507-0.
55. Singh M, Ariatti M. A cationic cytofectin with long spacer mediates favourable transfection in transformed human epithelial cells. *Int J Pharm*, 2006; 309: 189-98. Doi: 10.1016/j.ijpharm.2005.11.023.
56. Mansouri S, Lavigne P, Corsi K, Benderdour M, Beaumont E, Fernandes JC. Chitosan-DNA nanoparticles as non-viral vectors in gene therapy: Strategies to improve transfection efficacy. *Eur J Pharm Biopharm*, 2004; 57: 1-8. Doi: 10.1016/S0939-6411(03)00155-3.
57. Li Z, Chen J, Sun W, Xu Y. Investigation of archaeosomes as carriers for oral delivery of peptides. *Biochem Bioph Res Co*, 2010; 394: 412-7. Doi: 10.1016/j.bbrc.2010.03.041.
58. Danis O, Ogan A, Tatlican P, Attar A, Cakmakci E, Mertoglu B, et al. Preparation of poly(3-hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) films from halophilic archaea and their potential use in drug delivery. *Extremophiles*, 2015; 19 (2), 515-24. Doi: 10.1007/s00792-015-0735-4.

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 55 91

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

