



T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
HALK SAĞLIĞI
GENEL MÜDÜRLÜĞÜ

REPUBLIC OF TURKEY
THE MINISTRY OF HEALTH
GENERAL DIRECTORATE OF PUBLIC HEALTH

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

TÜRK HİJYEN
ve
DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 82 ■ Sayı/Number 2 ■ Yıl/Year 2025

**TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND
EXPERIMENTAL BIOLOGY**

Türk Hij Den Biyol Derg



TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Sahibi / Owner

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü adına

On behalf of General Directorate of Public Health

Doç. Dr. Muhammed Emin DEMİRKOL, Genel Müdür (General Director)

EDİTÖR

EDITOR IN CHIEF

Doç. Dr. Mustafa Kemal BAŞARALI (S.B. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü)

EDİTÖR YARDIMCILARI

DEPUTY EDITORS

Prof. Dr. Ayşegül TAYLAN ÖZKAN (Uluslararası Kıbrıs Üniversitesi Tıp Fakültesi)

Prof. Dr. Demet CANSARAN DUMAN (Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enst.)

Prof. Dr. Hülya ŞİMŞEK (Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi)

Doç. Dr. Pınar MURSAOĞLU KAYNAR (Ankara Medipol Üni. Eczacılık Fakültesi)

YAYIN KURULU

EDITORIAL BOARD

Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK (Uşak Üniversitesi Tıp Fakültesi)

Prof. Dr. Fatih BAKIR (Lokman Hekim Üniversitesi Tıp Fakültesi)

Doç. Dr. Selin NAR ÖTGÜN (S.B. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü)

Doç. Dr. Cemile SÖNMEZ (S.B. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü)

Doç. Dr. Dilek YAĞCI ÇAĞLAYIK (Marmara Üniversitesi Pendik EAH)

Dr. Gıda Müh. Şule ŞENSES ERGÜL (S.B. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü)

İSTATİSTİK EDİTÖRLERİ

STATISTICAL EDITORS

Uzm. Dr. Fehminaz TEMEL (S.B. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü)

Doç. Dr. Can Hüseyin HEKİMOĞLU (S.B. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü)

İNGİLİZCE DİL EDİTÖRÜ

ENGLISH LANGUAGE EDITOR

Doç Dr. Gülsen BUDAK TOPAKTAŞ (S.B. Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü)

TEKNİK KURUL

TECHNICAL BOARD

Utku ERCÖMERT (S.B. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü)

Zeynep KÖSEOĞLU (S.B. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü)

Selahattin TAŞOĞLU (S.B. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü)

Gülray GÜLTAY (S.B. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü)

HALK SAĞLIĞI GENEL MÜDÜRLÜĞÜ

GENERAL DIRECTORATE OF PUBLIC HEALTH

ANKARA-TÜRKİYE

Yılda dört kez yayımlanır / Published four times per year

Tasarım - Dizgi / Design - Editing :

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü / General Directorate of Public Health
THDBD Teknik Kurulu / TBHEB Technical Board
Sağlık Mah. Adnan Saygun Cad. No:55 Sıhhiye /
ANKARA Tel: +90 312 565 55 80

Baskı ve Cilt / Press and Binding :

Sağlık Geliştirilmesi Genel Müdürlüğü / General Directorate of
Health Improvement Dijital Baskı Merkezi - Matbaa / Digital
Printing Center - Printing House
Sağlık Mah. Adnan Saygun Cad. No:55 Sıhhiye/ANKARA
Tel: +90 312 565 55 88

Yayın Türü / Type of Publication :

Yerel Süreli Yayın / Periodical Publication

Basım Tarihi / Date of Publication :

Haziran - 2025 / June - 2025

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

ULUSLARARASI BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / INTERNATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Ali MIRAZIMI, İsveç

Anna PAPA, Yunanistan

Aziz SANCAR, ABD

Cristina DOMINGO, Almanya

Daniel MOTLHANKA, Botswana

Dwight D. BOWMAN, ABD

Isme HUMOLLI, Kosova

Isuf DEDUSHAJ, Kosova

Iva CHRISTOVA, Bulgaristan

Johan LINDH, İsveç

Kosta Y. MUMCUOĞLU, İsrail

Manfred WEIDMANN, İngiltere

Paul HEYMAN, Belçika

Pauline MWINZI, Kenya

Roberto Caneta VILLAFRANCE, Küba

Sıraç DİLBER, İsveç

Susana RODRIGUEZ-COUTO, İspanya

Takashi AKAMATSU, Japonya

Varalakshmi ELANGO, Hindistan

ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

A. Gülçin SAĞDIÇOĞLU-ÇELEP, Ankara

Abdülkadir HALKMAN, Ankara

Ahmet ÇARHAN, Ankara

Akçahan GEPDİREMEN, Bolu

Ali ALBAY, Ankara

Ali Kudret ADİLOĞLU, Ankara

Ali Naci YILDIZ, Ankara

Alp ERGÖR, İzmir

Alper AKÇALI, Çanakkale

Aşkın YAŞAR, Ankara

Ateş KARA, Ankara

Aydan ÖZKÜTÜK, İzmir

Aykut ÖZKUL, Ankara

Aysegül GÖZALAN, Alanya

Aysegül TAYLAN ÖZKAN, Ankara

Banu ÇAKIR, Ankara

Banu SANCAK, Ankara

Bayram ŞAHİN, Ankara

Bekir ÇELEBİ, Ankara

Belgin ÜNAL, İzmir

Berrin ESEN, Afyonkarahisar

Birce TABAN, Ankara

Bülent ALTEN, Ankara

Can Hüseyin HEKİMOĞLU, Ankara

Celal F. GÖKÇAY, Ankara

Cemal SAYDAM, Ankara

Cemile SÖNMEZ, Ankara

Delia Teresa SPONZA, İzmir

Demet CANSARAN DUMAN, Ankara

Dilek ASLAN, Ankara

Dilek YAĞCI ÇAĞLAYIK, İstanbul

Diler ASLAN, Denizli

Doğan YÜCEL, Ankara

Duygu ÖZEL DEMİRALP, Ankara

Ebubekir CEYLAN, Ankara

Emrah RUH, Kıbrıs

Ender YARSAN, Ankara

Erhan ESER, Manisa

Erkan YILMAZ, Ankara

Fatih BAKIR, Ankara

Fehminaz TEMEL, Ankara

Fügen DURLU ÖZKAYA, Ankara

Fügen YÖRÜK, Ankara

Gönül ŞAHİN, Ankara

Görkem MERGEN, Ankara

Gül ERGÖR, İzmir

Gül Ruhsar YILMAZ, Ankara

Gülberk UÇAR, Ankara

Gülnaz ÇULHA, Hatay

Gülnur TARHAN, Adıyaman

Hakan ABACIOĞLU, İzmir

Haluk VAHABOĞLU, İstanbul

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Hanefi ÖZBEK, İzmir
Hasan IRMAK, Ankara
Hasan TEZER, Ankara
Hayrettin AKDENİZ, Bolu
Hilal ÖZDAĞ, Ankara
Hülya ŞİMŞEK, Yozgat
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, Ankara
Mestan EMEK, Antalya
Metin KORKMAZ, İzmir
Mithat ŞAHİN, Kars
Murat DİZBAY, Ankara
Murat TOPBAŞ, Trabzon
Mustafa AKSOY, Ankara
Mustafa ERTEK, Ankara
Mustafa Necmi İLHAN, Ankara
Mustafa Kasım KARAHOCAGİL, Kırşehir
Mustafa Kemal BAŞARALI, Ankara
Mustafa KAVUTÇU, Ankara
Mükerrem KAYA, Erzurum
Nazime MERCAN, Denizli
Nazmi ÖZER, Ankara
Nilay ÇÖPLÜ, Ankara
Nur AKSAKAL, Ankara
Nur Münevver PINAR, Ankara
Nuran ESEN, İzmir

Oğuz GÜRSOY, Denizli
Orhan BAYLAN, İstanbul
Orhan YILMAZ, Ankara
Özlem KURT AZAP, Ankara
Pınar MURSALOĞLU 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, Çanakkale
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 ŞENSES ERGÜL, Ankara
Tayfur Ata SÖKMEN, Hatay
Turan BUZGAN, Ankara
Yeşim ÖZBAŞ, Ankara
Yunus Emre BEYHAN, Van
Zafer ECEVİT, Ankara
Zafer KARAER, Ankara
Zati VATANSEVER, Kars
Zeynep GÜLAY, İzmir

I) AMAÇ VE KAPSAM

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi (THDBD), T.C. Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü'nün yayın organı olan bilimsel bir dergidir. Dergi üç (3) ayda bir (Mart, Haziran, Eylül, Aralık) yayımlanır ve dört (4) sayıda bir cilt tamamlanır. Talep olması durumunda Ek Sayı çıkarılır.

Dergimizin amacı tıp alanında aşağıdaki konularda yapılan, bilimsel açıdan nitelikli ve literatüre katkı sağlayacak klinik ve deneysel araştırma yazılarını yayımlamaktır.

Dergide biyoloji, mikrobiyoloji, enfeksiyon hastalıkları, farmakoloji, toksikoloji, immünoloji, parazitoloji, entomoloji, kimya, biyokimya, gıda, beslenme, çevre, halk sağlığı, epidemiyoloji, patoloji, fizyopatoloji, moleküler biyoloji, genetik ve biyoteknoloji ile ilgili alanlardaki özgün araştırma, olgu sunumu, derleme, editöre mektup ve teknik rapor türündeki yazılar yayımlanır.

II) YAYIN İLKELERİ

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 Üyesi'nden (Hakem'den) olumlu görüş alındığında yayımlanmaya hak kazanır. Hakemlerin ve yazarların isimleri gizli tutulur. Hakemler değerlendirme süreçlerini en geç üç ay içinde tamamlar. 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.

III) TELİF VE LİSANS

Makalelerin tıbbi ve etik sorumluluğu yazarlara aittir. Makalelerin ve kaynakların içeriğinden, yayımlanan makalelerdeki veriler, fikirler ve ifadelerden yazarlar sorumludur; editörler, yayın kurulu ve T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü bu konularda herhangi bir sorumluluk kabul etmemektedir. Yazarlara telif ücreti ödenmez.

Yazarlar, makalenin yayına kabul edilmesi halinde telif haklarını Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne devretmeyi kabul ederler. Ancak yazarlar aşağıdaki haklara sahiptir:

- Telif haklarının dışında kalan patent vb. tescil edilmiş haklar,
- Dergi ve kitap yayını dışında tüm eğitim faaliyetlerinde ücret ödemediği kullanılabilecek hakkı,
- Ticari olmamak koşulu ile makaleyi çoğaltabilme hakkı.

Yazarlar, Telif Hakkı Devir Sözleşmesini imzalayarak, makalenin Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi tarafından yayımlanmak üzere kabul edilmesi durumunda Creative Commons Atıfı GayriTicari-Türetilmez 4.0 Uluslararası (CC BY-NC-ND 4.0) kapsamında lisanslanacağını kabul ederler.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi tarafından yayımlanan tüm makaleler, Creative Commons Atıfı GayriTicari-Türetilmez 4.0 Uluslararası (CC BY-NC-ND 4.0) lisansına tâbidir. Bu Lisans, makalenin uygun şekilde belirtilmesi, kullanımın ticari olmaması ve herhangi bir değişiklik veya uyarılma yapılmaması koşuluyla, herhangi bir ortamda kullanıma, dağıtılmasına ve çoğaltılmasına izin verir. Lisansın koşulları hakkında daha fazla bilgi için lütfen bakınız: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>. Bu lisans altında yayımlanan materyalin ticari amaçlı kullanım (satış vb.) durumunda telif hakkı sahibi ve yazar haklarının korunması için izin gereklidir. İçerik bilimsel bağlamlarda ve sunumlarda referans olarak kullanılabilir. Bu koşullar dışında, makalelerin yeniden kullanımına ilişkin izinler THDBD Editörlüğü'nden alınmalıdır.

IV) AÇIK ERIŞİM POLİTİKASI

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi açık erişim politikasını benimsemiştir. Açık erişim politikası Budapeşte Açık Erişim Girişimi (BOAI) kuralları esas alınarak uygulanmaktadır. BOAI'ye göre Açık Erişim, "Hakem değerlendirmesinden geçmiş bilimsel makalelerin, internet aracılığıyla; finansal, yasal ve teknik engeller olmaksızın, serbestçe erişilebilir, okunabilir, indirilebilir, kopyalanabilir, dağıtılabilir, basılabilir, taranabilir, tam metinlere bağlantı verilebilir, dizinlenebilir, yazılıma veri olarak aktarılabilir ve her türlü yasal amaç için kullanılabilir olması"dır. <https://www.budapestopenaccessinitiative.org/boai-10-translations/turkish-translation>

Dergide yayınlanan bilimsel yazılara, Creative Commons Atıfı-GayriTicari-Türetilmez 4.0 Uluslararası Lisansı çerçevesinde ücretsiz erişilebilir. Dergimiz, hakem değerlendirmesinden geçmiş bilimsel literatürün, herkese

serbestçe ulaşılabilir kılınması, daha geniş bir küresel bilgi alışverişini desteklemesi ilkesine dayanarak içeriğine anında açık erişim sağlar. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'nde yayımlanan tüm makaleler Açık Erişim talimatlarına uygundur.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi yayımladığı makaleleri tüm dünyada serbestçe çevrimiçi erişilebilir kılmak için makalelere anında açık erişim sağlamaktadır. Makalelere erişim için abone olunmasında gerek yoktur. Dergi kullanıcıları olmadan da sistemdeki tüm makaleler ulaşılabilir okunabilmektedir. Makale gönderme, değerlendirme ve yayımlama ücreti alınmamaktadır.

V) ÜCRET POLİTİKASI

Makale gönderilmesi, değerlendirilmesi ve yayımlanması için ücret alınmaz.

VI) ETİK KURALLAR

Araştırma ve yayın etiği kurallarına uymak yazarların sorumluluğundadır. 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 uymalıdır.

Etik kurul izni gerektiren tüm araştırmalar için Etik Kurul Onayı alınması, belgelendirilmeli; kurul adı, tarih ve sayısı "Gereç ve Yöntem" bölümünde belirtilmelidir.

Klinik araştırmalarda, çalışmaya katılanlardan bilgilendirilmiş olur alındığının gereç ve yöntem bölümünde belirtilmesi gerekmektedir. Gönüllü ya da hastalara uygulanacak prosedürlerin özelliği tümüyle anlatıldıktan sonra kendilerinin bilgilendirilip onaylarının alındığını gösterir beyan "Gereç ve Yöntem" kısmında bulunmalıdır. Olgu sunumlarında ve araştırma makalelerinde hasta kimliğini içeren herhangi bir doküman kullanılmamalıdır. Hasta kimliğini ortaya çıkaracak bilgiler (fotoğraf vs.) kullanıldığında hastanın yazılı onayı gönderilmelidir.

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar için de gereken izinler alınmalı; yazıda deneklere ağrı, acı ve rahatsızlık verilmemesi için neler yapıldığı açık bir şekilde belirtilmelidir. Hayvan deneylerinde, çalışma "Laboratuvar Hayvanlarının Bakım ve Kullanımı Kılavuzunda" (www.nap.edu/catalog/5140.html) belirtilen etik düzenlemelere göre yapılmalıdır ve yazarlar etik kurul onayı alındığını ve etik kurul tarih ve sayısını "Gereç ve Yöntem" kısmında beyan etmelidirler. Deneysel ve klinik ilaç çalışmalarında Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı düzenlemelerine uygun olarak yapıldığı ve etik kurul onayı alındığı metin içinde belirtilmelidir.

Makalenin formatı ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors) ve COPE (Committee on Publication Ethics) rehberlerine uygun olmalıdır.

VII) YAZI DİLİ

Dergimizin yazı dilleri Türkçe ve İngilizcedir. Dili Türkçe olan yazılar İngilizce "abstract" ile, dili İngilizce olan yazılar da Türkçe özetleri ile yer alırlar. Özet ve "Abstract" bölümleri bire bir çeviriler şeklinde yer almalıdır. Yazının hazırlanması sırasında, Türkçe kelimeler için Türk Dil Kurumundan (www.tdk.gov.tr), teknik terimler için Türk Tıp Terminolojisinden (www.tipterimleri.com) yararlanılması önerilir. Dili İngilizce olan yazıların mutlaka yazım ve dilbilgisi açısından yeterliliklerinin kontrol edilmiş olması gereklidir. Dil açısından yetersiz görülen yazılar değerlendirmeye alınmazlar.

VIII) 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 yapılmaktadır.

Yayımlanmak üzere gönderilecek yazılar;

* Bilimsel düzeyi yüksek, orijinal ve kaynak gösterilebilecek özellikte olmalıdır.

* Bilgiler ve kaynaklar son 5 (beş) yıla ait güncel verileri içermelidir.

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

2. Makale başlığı, İngilizce başlık, kısa başlık, yazar ad(ları), yazar(lar)ın çalıştığı kurum(lar) ve birim(ler), yazıma işini üstlenen yazarın açık adresi, telefon numaraları (sabit ve cep), elektronik posta adresi belirtilmelidir.

a. Yazının başlığı kısa olmalı ve küçük harfle yazılmalıdır.

b. Sayfa başlarına konan kısa başlık 40 karakteri geçmemelidir.

c. Çalışma bilimsel bir kuruluş ve/veya fon ile desteklenmişse dipnot veya teşekkür bölümünde mutlaka yazılmalıdır. Herhangi bir ticari ürün ve/veya

şirketle bir ilişki yoksa, başvuru yazısında belirtilmelidir.

d. Makale, kongre/sempozyumda sunulmuşsa sunum türü ile birlikte dipnot şeklinde mutlaka belirtilmelidir.

3. Yazılardaki terimler mümkün olduğunca Türkçe ve Latince olmalı, dilimize yerleşmiş kelimelere yer verilmeli ve **Türk Dil Kurumu**'nun güncel sözlüğü kullanılmalıdır. Yazıların dili açık ve anlaşılır olmalı, imlâ ve yazım hataları olmamasına özen gösterilmelidir.

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

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

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

7. Metnin tamamı 12 punto Times New Roman karakteri ile çift aralıkla yazılmalı ve sayfa kenarlarından 2.5 cm boşluk bırakılmalıdır.

8. 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.

Dergimizin ve makalenizin olabildiğince fazla atıf alabilmesi için özetler son derece kapsamlı hazırlanmalı; gramer, imlâ ve yazım hataları barındırmamalıdır.

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

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

c) **Anahtar Sözcükler:** 3-8 arasında olmalı ve **Index Medicus Medical Subject Headings - (MeSH)**'de yer alan sözcükler kullanılmalıdır. Türkçe anahtar sözcüklerinizi 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 yazılımı 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.

Makalenizin Kaynaklar bölümünde Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisinde yayımlanmış makalelere atıf yapılmasına özen gösterilmelidir.

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

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

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

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

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

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

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

- **Örnek:** Weinstein L. Swarts MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. Pathologic Physiol ogy: Mechanism of Disease. Phidelpia. 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, Mascaro C. New sturctural 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 dizi analizi: Gen kalıtım numaraları ve DNA dizileri makale içinde kaynak olarak gösterilmelidir. Konuyla ilgili ayrıntılı bilgi için “National Library of Medicine” adresinde “National Center for Biotechnical Information (NCBI)” bölümüne bakınız.

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

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

10. **Derleme** türü yazılarda tercihen yazar sayısı ikiden fazla olmalıdır. Yazar(lar) daha önce bu konuda çalışma ve yayın yapmış olması; bu deneyimlerini derleme yazısında tartışmalı ve kaynak olarak göstermelidir. Derlemelerde Türkçe ve İngilizce olarak başlık, özet (en az 250, en fazla 400 sözcük içermelidir) ve anahtar sözcükler bulunmalıdır. Derleme türü yazılar için kaynak sayısı en fazla 60 olmalıdır.

11. **Olgu sunumlarında** metin yedi sayfayı aşmamalıdır. Türkçe ve İngilizce olarak başlık, özet ve anahtar sözcükler ayrıca giriş, olgu ve tartışma bölümleri bulunmalıdır. Olgu sunumu türü yazılar için kaynak sayısı en fazla 20 olmalıdır.

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

13. **Teknik Rapor** türü yazılar ilgili alanda önemli katkısı olabilecek bilgileri içermelidir. Teknik raporlarda Türkçe ve İngilizce başlık, tek paragraf olacak şekilde Türkçe ve İngilizce özet, Türkçe ve İngilizce olmak üzere anahtar kelimeler yer almalıdır. Kaynak sayısı en fazla 10 olmalıdır.

14. Bu kurallara uygun olmayan metinler kabul edilmez.

15. Yazarlar teslim ettikleri yazının bir kopyasını saklamalıdır.

I) AIM and SCOPE

The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology (TBHEB) is a publication of the "Republic of Turkey, Ministry of Health, General Directorate of Public Health ". The Journal is published every three months (March, June, September, December) and one volume consists of four (4) issues.

Goal of the our journal is to publish clinical and experimental research articles which are scientifically qualified and will provide a new contribution to the literature.

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, letters to the editor and technical reports.

II) PUBLISHING POLICY

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. The names of the reviewers and authors are kept confidential. Reviewers complete the evaluation processes within three months at the latest. 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.

III) COPYRIGHT and LICENSING

The authors are responsible for the scientific and ethical liability of the manuscripts. Authors are responsible for the contents of the manuscript and the references. The data, opinions and statements of published articles are authors' responsibility, and the Editors, Editorial Board and Republic of Turkey Ministry of Health General Directorate of Public Health deny any responsibility on these subjects. Copyright fee is not paid to the authors.

The authors agree to transfer the copyright to The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology if the article is accepted for publication. However, the authors retain the following rights:

- Registered rights rather than copyrights such as patent etc.
- The right to use it no charge in all educational activities except for publication in journals or books.
- The right to multiply manuscript provided that it is not commercial.

By signing the Copyright Transfer Form, authors agree that the article, if accepted for publication by The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology, will be licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0).

All articles published by The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology are subject to the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License (CC BY-NC-ND 4.0). This License permits use, distribution, and reproduction in any platform, provided that the article is properly cited, the usage is noncommercial, and no modifications or adaptations are made. For more information on the conditions of the license please look at: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/> Permission is required for the protection of copyright holder and author rights in the case of commercial use (sales etc.) of material published under this license. The content can be used as a reference in scientific publications and presentations. Except these conditions, permissions for re-use of manuscripts should be obtained from TBHEB editorial office.

IV) OPEN ACCESS POLICY

The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology has adopted open access policy. Open Access Policy is based on rules of Budapest Open Access Initiative (BOAI). According to BOAI, Open Access states, "Scientific articles that have been evaluated by the referee, via the Internet; be freely accessible, readable, downloadable, copied, distributed, printed, scanned, linked to full texts, indexed, transmitted as data and used for any legal purpose, without financial, legal and technical barriers. <https://www.budapestopenaccessinitiative.org/read>

Scientific articles published in the journal are freely available under the Creative Commons 4.0 International License (CC BY-NC-ND 4.0). Our Journal, provides immediate open access to its peer-reviewed scientific literature on

the principle of making it freely available to the everyone and supporting a greater global exchange of knowledge. Published articles in The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology are fully comply with Open Access instructions.

The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology instant open access to the articles is provided to make the articles published in journals freely available online all over the world. There is no need to subscribe to access articles. All articles in the system can be accessed and read without being a journal user. There is no fee for article submission, evaluation and publishing.

V) PRICE POLICY

Article submission, evaluation and publication are free.

VI) ETHICAL RULES

The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology expects the authors to comply with the ethics of research and publication. In case the authors do not have a local ethics committee, the principles outlined in the "Declaration of Helsinki" should have been followed. Authors must comply with the internationally accepted guidelines and provisions set out in all applicable legislation when it comes to this type of work.

Ethics Committee Approval must be obtained and documented for all researches requiring ethics committee approval; The name, date and number of the committee should be stated in the method section of the article.

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 reports, information about the signed informed patient consent form should be included in the article. In case patient information (photograph, etc.) is used which shows patient ID, a written informed consent of the patient must be submitted.

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. In animal experiments, the study should be conducted in accordance with the ethical regulations specified in the "Guide to the Care and Use of Laboratory Animals" (www.nap.edu/catalog/5140.html) and the authors should declare that the ethics committee approval was obtained and the date and number of the ethics committee in the "Materials and Methods" section. Experimental and clinical drug studies performed in accordance with the Republic of Turkey Ministry of Health regulations and ethics committee approval must be stated in the article.

The format of the article should be in accordance with ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors) and COPE (Committee on Publication Ethics) guidelines.

VII) LANGUAGE of the JOURNAL

The official languages of the our Journal are Turkish and English. The manuscripts written in Turkish have also abstracts in English, and the articles in English have also abstracts in Turkish. The Turkish and English abstracts should be literal translations of each other. When preparing manuscripts, the Turkish Language Institution (www.tdk.gov.tr) is advised for consulting Turkish words and Turkish Medical Terminology (www.tipterimleri.com) for technical terms. Manuscripts in English must absolutely be checked for spelling and grammar. Manuscripts considered insufficient in language will not be considered for evaluation.

VIII) WRITING RULES

Manuscripts submitted for publication in the journal should be prepared according to the writing rules of the Turkish Journal of Hygiene and Experimental Biology.

Applications are made online at www.turkhijyen.org via the "Online Manuscript Submit, Track, Evaluate Program".

Articles to be submitted for publication;

- * Should have a high scientific level, be original and suitable for reference.
- * Information and references should contain up-to-date data for the last 5 (five) years.
- 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, Turkish title, short title, author name(s), names of institutions and the departments of the author(s), full address of the

WRITING RULES OF TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

corresponding author, telephone numbers (landline and mobile), 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". The language of the articles should be clear, and care should be taken to avoid spelling and writing mistakes.

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. 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).

Abstracts should be prepared in an extremely comprehensive way; it should not contain grammatical, spelling and writing errors.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- **Periodicals:** Author(s) Last Name initial(s) name of author(s) (if there are six

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

- **Example of standard journal article:** Demirci M, Unlü M, Sahin U. A case of hydatid cyst diagnosed by kinyoun staining of lung bronco-alveolar fluid. *Türkiye Parazitol Derg*, 2001; 25 (3): 234-5.

- **Example of an article with authors unknown:** Anonymous. Coffee drinking and cancer of the pancreas (Editorial). *Br Med J*, 1981; 283:628.

- **Example of journal supplement:** Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M. Functional asplenia: Demonstration of splenic activity by bone marrow scan (Abstract). *Blood*, 1979; 54 (Suppl 1): 26a.

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

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

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

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

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

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

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

- **Figure and Tables:** Each table or figure should be printed on a separate sheet, the top and bottom lines and if necessary column lines must be included. Tables should be numbered like "Table 1." and the table title should be written above the top line of the table. Explanatory information should be given in footnotes, not in the title and appropriate icons (*,+,++, etc.) should be used. Photos should be in "jpeg" format. In case the quality of the photos is not good for publication, the originals can be requested.

9. Research articles should have up to 40 references.

10. 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.

11. Case reports should have a maximum of seven pages of text. Case report should have a Turkish and English title, abstract, keywords and also introduction, case description and discussion sections should be given. Number of references should be maximum 20.

12. 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.

13. Technical report should contain information that may contribute significantly to the relevant field. Technical reports should include Turkish and English titles, Turkish and English abstracts in a single paragraph, keywords in Turkish and English. The number of references should be maximum 10.

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

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

ETİK İLKELER VE YAYIN POLİTİKASI

ETİK İLKELER

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi Editör ve Hakemleri, Uluslararası Tıp Dergisi Editörleri Komitesi (ICMJE), Yayın Etiği Komitesi (COPE), Dünya Tıp Editörleri Birliği (WAME), Bilim Editörleri Konseyi (CSE), Avrupa Bilim Editörleri Birliği (EASE), ABD Ulusal Tıp Kütüphanesi (NLM), Dünya Tıp Birliği (WMA) ve Ulusal Bilgi Standartları Örgütü (NISO) rehber kurallarına uymaktadır.

Yazarlara yönelik; dergi politikası gereğince, uluslararası anlaşmalara uygun bir etik kurul tarafından araştırma protokollerinin onaylanması gereklidir. [WMA Helsinki Deklarasyonu - İnsan Denekleri İçeren Tıbbi Araştırmalar için Etik İlkeler (son güncelleme: Ekim 2013, Fortaleza, Brezilya)”, “Tüm araştırma çalışmaları için laboratuvar hayvanlarının bakım ve kullanımı kılavuzu (8. baskı, 2011) “ve / veya” Hayvanları içeren Biyomedikal Araştırmalara Yönelik Uluslararası Rehber İlkeler (2012)]. Gönderilen makale, etik kurul onayı içermemesi durumunda değerlendirme için işleme alınmaz.

ÇIKAR ÇATIŞMASI POLİTİKASI

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'nin editör incelemesi, uluslararası editör organizasyonları (ICMJE, EASE, WAME, COPE, CSE,...) tarafından belirlenen İyi Editörlük Uygulamalarına uygundur. WAME, yayın sürecinde (makalenin gönderilmesi, hakem incelemesi, editör kararları ve yazarlar, hakemler ve editörler arasındaki iletişim) yazar, hakem veya editörlerin, süreçteki sorumluluklarını (akademik dürüstlük, çalışmanın yürütülmesinde ve raporlanmasında yanlıtma olmaması, karar ve hükümlerin uygunluğunu) etkileyebilecek herhangi bir rekabetçi çatışma varsa çıkar çatışmasının mevcut olduğunu belirtmektedir.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, tüm yazarların, hakemlerin ve editörlerin, WAME tarafından yukarıda belirtilen herhangi bir rekabet çıkarının yanı sıra, ailevi, kişisel, finansal, politik veya dini konularla ilgili herhangi bir çıkar çatışmasını editöre bildirmesini istemektedir. Herhangi bir çıkar çatışması ve finansal desteğin olup olmadığı, makalelerin sonunda beyan edilmelidir.

Yazarlar inceleme sürecinde bölüm editörlerinden hiçbirisi ile iletişime geçmemelidir. Makalelerin süreci ile ilgili tüm gerekli bilgiler dergi sekreterliğinden edinilebilir. Editör ve hakemlerin isimleri yazarlara verilmaz. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'nin çift kör gözden geçirme ilkeleri nedeniyle, yazarların ve hakemlerin isimleri diğer kişilerce bilinmemektedir.

YAYIN POLİTİKASI ve HAKEM DEĞERLENDİRME SÜRECİ

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi (THDBD), **çift kör hakem değerlendirmesi** ile Türkçe ve İngilizce dillerinde T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü tarafından yayımlanmaktadır. THDBD yayın ilkelerinde belirtilen konularda yazılan makaleleri kapsamaktadır. Sadece çevrimiçi (online) başvurular kabul edilmektedir. Dergiye kabul edilme sürecindeki değerlendirilmelerde aranan temel özellikler özgünlük ve bilim literatürüne katkıdır.

Makaleler gönderildikten sonra öncelikle editörler tarafından değerlendirilmektedir. Editörler hakem değerlendirme sürecinden önce makalelerin THDBD yazım kurallarına uygun yazılıp yazılmadığını değerlendirmektedirler. Bu kurallara göre yazılmayan makaleler değerlendirilmeye alınmamaktadır.

Sonrasında, makalenin değerlendirilmesi için iki hakem atanır. Hakemler aynı alanda yayınları olan uzmanlar arasından seçilir. Makaleler ihtiyaç halinde istatistik editörü tarafından da kontrol edilebilir. Tüm makaleler İngilizce dil editörü tarafından da incelenir. Hakemlere değerlendirme için 20 gün süre verilmektedir ve eğer herhangi bir düzeltme istenirse yazarların gerekli düzeltmeleri yapmak için 30 gün süresi vardır. Editör, editör yardımcıları, istatistik editörü ve İngilizce dil editörü kabul edilen makalenin asıl anlamını değiştirmeyen küçük düzeltmeler yapabilirler.

ETHICAL PRINCIPLES AND PUBLICATION POLICY

ETHICAL PRINCIPLES

The Editorial Board and Reviewers of the Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology adhere to the guidelines of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), Committee on Publication Ethics (COPE), World Association of Medical Editors (WAME), Council of Science Editors (CSE), European Association of Science Editors (EASE), the US National Library of Medicine (NLM), the World Medical Association (WMA), and National Information Standards Organization (NISO).

For Authors; as journal's policy, an approval of research protocols by an ethics committee in accordance with international agreements “WMA Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects (last updated: October 2013, Fortaleza, Brazil)” ,“Guide for the care and use of laboratory animals (8th edition, 2011)” and/or “International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals (2012)” is required for all research studies. If the submitted manuscript does not include ethics committee approval, it will not be processed for evaluation.

CONFLICT OF INTEREST POLICY

Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology's editorial review process is in accordance with the Good Editorial Practice set by international editorial organizations (ICMJE, EASE, WAME, COPE, CSE, ...). WAME indicates that “conflict of interest exists when an author, reviewer, or editor in the publication process (submission of manuscripts, peer review, editorial decisions, and communication between authors, reviewers and editors) has a competing interest that could unduly influence his or her responsibilities (academic honesty, unbiased conduct and reporting of research, and integrity of decisions or judgments) in the publication process”.

Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology requires that each author, reviewer, and editor must disclose to the editor-in-chief any conflict of interest related to family, personal, financial, political or religious issues as well as any competing interest outlined above at the WAME's definition. Whether or not a conflict of interest and financial support exist, they must be declared at the end of the manuscripts.

Authors should not contact any of the section editors during the review process. All necessary information regarding the process of a manuscript can be obtained from the editorial office. However, the names of the handling editor and the reviewers are not given to the author(s). Due to the Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology's double-blinded review principles, the names of authors and reviewers are not known to the other.

PUBLICATION POLICY and PEER REVIEW PROCESS

Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology (TBHEB) is published in Turkish and English by Republic of Turkey Ministry of Health General Directorate of Public Health which processing through **double-blind peer review**. The journal covers clinical and experimental research articles on subjects from all medical areas, review articles, case reports, letters to the editor, manuscripts on historical evolution of diseases and medicine and content on ethical problems. Articles are accepted only by online submission. The basic features supposed to be in an article during assessment processes for the acceptance to journal are the contribution to the scientific literature and the originality.

All manuscripts are underwent an initial process by the Editors after the submission. Editors firstly evaluates whether the manuscript is prepared according to the journal's manuscript submitting rules before peer review process. Manuscripts which are not appropriate for those rules will not be evaluated.

Then, two reviewers are assigned for manuscript evaluation. Reviewers are selected among specialists who also have publications in literature in the same medical field. Articles might be checked by the statistical editor in addition if needed. All manuscripts are also inspected for English grammatical and manuscript preparation rules. 20 days are given for reviewer and, if any corrections are required, the author(s) has 30 days to make the requested corrections. The Editor-in-Chief, Associate Editors, statistical editor and English language editor may make minor corrections to accepted manuscripts that do not change the main meaning of the manuscript.

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.

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

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

INDEX COPERNICUS
INTERNATIONAL

Scopus

ResearchGate

CAS
A division of the American Chemical Society

Google
scholar beta

Academic Journals Database
disseminating
quality controlled scientific knowledge

EBSCO
HOST
Electronic
Journals
Service

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi (Türk Hij Den Biyol Derg); Index Copernicus, ResearchGate, CAS (Chemical Abstracts Service), Google Scholar, Google, OpenJ-Gate, Genamics JournalSeek, Academic Journals Database, Scirus Scientific Database, EBSCOhost Electronic Journals Service (EJS), Medoanet, SCOPUS, Türkiye Atıf Dizini, Türk - Medline ve TUBITAK - ULAKBIM Türk Tıp Dizini'nde yer almaktadır.

The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology (Türk Hij Den Biyol Derg) is taken part in Index Copernicus, Research Gate, CAS (Chemical Abstracts Service), Google Scholar, Google, Open J-Gate, Genamics JournalSeek, Academic Journals Database, Scirus Scientific Database, EBSCOhost Electronic Journals Service (EJS), Medoanet, SCOPUS, Türkiye Atıf Dizini, Türk - Medline and TUBITAK - ULAKBIM Türk Tıp Dizini.

TÜRKİYE ATIF DİZİNİ

TÜRK MEDLINE

TÜRKİYE ATIF DİZİNİ

GENAMICS™
...research from your desktop

medoanet
Mediterranean Open Access Network

Open
J-Gate

İLETİŞİM

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi Editörlüğü

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

Tel: 0312 565 55 80

Faks: 0312 565 55 91

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

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

www.turkhijyen.org

CORRESPONDENCE

General Directorate of Public Health
Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

■ Araştırma Makalesi / Original Article

1. Investigation of phenotypic and genotypic characteristics of *Acinetobacter baumannii* isolated from clinical samples
Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii*'nin fenotipik ve genotipik özelliklerinin araştırılması
Nezihat KOŞAR, Djursun KARASARTOVA, Ayşe Semra GÜRESER, Ayşegül TAYLAN ÖZKAN
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2025.94752 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 209 - 230
2. Phenotypic and genotypic analysis of macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates
Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* izolatlarında makrolid-lincosamide-streptogramin B direncinin fenotipik ve genotipik analizi
Noura SAED MAHMOUD AETEER, Aylin ALTAY KOÇAK, Hasan Cenk MİRZA, Gizem İNCE CEVİZ, Ahmet BAŞUSTAĞLU
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2025.48243 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 231 - 238
3. Investigation of the frequency of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in acute gastroenteritis cases admitted to a tertiary hospital in Türkiye and determination of the antibiotic susceptibility of isolated strains and various virulence factors
Türkiye'de üçüncü basamak bir hastaneye başvuran akut gastroenterit olgularında *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter coli* sıklığının araştırılması ve izole edilen şuşların antibiyotik duyarlılıkları ve çeşitli virülans faktörlerinin belirlenmesi
Yusuf GÖRGÜLÜ, Harun GÜLBUDAK, Leyla ERSOY, Necdet KUYUCU, Seda TEZCAN ÜLGER, Ali KAYA, Gönül ASLAN
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2025.76329 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 239 - 248
4. Kütahya'daki 2009-2020 yılları arasında görülen kırım-kongo kanamalı ateşi olgularının değerlendirilmesi
Evaluation of crimean-congo hemorrhagic fever cases seen in Kütahya between 2009-2020
Duru MISTANOĞLU ÖZATAĞ, Pınar KORKMAZ
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2025.14306 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 249 - 256
5. Assessment of the relationship between fear of COVID-19 and emotional eating behavior of healthcare professionals
Sağlık çalışanlarının COVID-19 korkusu ile duygusal yeme davranışları arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi
İrem Merve TÜRK, Esen YEŞİL
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2025.45466 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 257 - 266
6. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımının değerlendirilmesi
Evaluation of the distribution of *Candida* species isolated from clinical specimens of patients hospitalized in intensive care units
Hacer Özlem KALAYCI, Mustafa Kerem ÇALGIN
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2025.58260 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 267 - 274
7. Brucellosis seropositivity in Ağrı Training and Research Hospital: Rose Bengal and serum tube agglutination test results
Ağrı Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Bruselloz seropozitifliği: Rose Bengal ve serum tüp aglütinasyon test sonuçları
Neşe İNAL, Ülkü Zeynep ÜREYEN ESERTAŞ, Funda ÇİMEN AÇIKGÜL
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2025.54514 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 275 - 280
8. Borderline over tümörlerinde intraoperatif frozen kesit incelemesinin doğruluğuna etki eden risk faktörleri
Risk factors affecting the accuracy of intraoperative frozen section examination in borderline ovarian tumors
Sevgi AYHAN, Zehra ÖZTÜRK BAŞARIR, Filiz YILDIRIM, Şeyma Banu ARSLANCA, İrem KAR
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2025.04372 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 281 - 290
9. Bibliometric examination of health tourism in the context of hygiene
Sağlık turizminin hijyen bağlamında bibliyometrik incelemesi
Nebi SEREN
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2025.01799 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 291 - 302

10. Helmintlerin ve artropodların demonstrasyonunda yeni preparat hazırlama tekniği: Epoksi reçinesi

New slide preparation technique for demonstration of helminths and arthropods: Epoxy resin

Alican BİLDEN, Merve KAHRAMAN, Nadia İBRAHİM KAMİL KAMİL, Gülşah ÖZKULA, Muttalip ÇİÇEK

Doi: 10.5505/TurkHijyen.2025.32067 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

303 - 310



11. Comparison of 16S rRNA sequencing methods for bacterial identification in clinical microbiology laboratories: Sanger sequencing vs. third-generation sequencing

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında bakteriyel tanımlama için 16S rRNA dizileme yöntemlerinin karşılaştırılması: Sanger dizilemesi ve üçüncü nesil dizileme

Süleyman YALÇIN, Ayşe Hande TÜRK, Hakan Farzin MEHMETZADE, Kerem AYDIN, Ekrem SAĞTAŞ

Doi: 10.5505/TurkHijyen.2025.30806 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")

311 - 322



12. The role of endothelium and calcium and large conductance calcium-activated potassium channels in the effect of fospropofol on vascular smooth muscles

Fospropofolün vasküler düz kaslar üzerindeki etkisinde endotel, kalsiyum ve büyük iletkenli kalsiyumla aktive olan potasyum kanallarının rolü

Meriç DEMELİ ERTUŞ, Mehmet Emin İNCE, Nadide ÖRS YILDIRIM, Alperen Kutay YILDIRIM, Bilge PEHLİVANOĞLU, Suat DOĞANCI, Vedat YILDIRIM

Doi: 10.5505/TurkHijyen.2025.55632 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")

323 - 334



Derleme / Review

13. Geleneksel ve tamamlayıcı tıp (GETAT) uygulamalarında hijyen, enfeksiyonlardan korunma ve hasta güvenliği

Hygiene, infection prevention and patient safety in traditional and complementary medicine (T&CM) practices

Fatma CEVAHİR, Mustafa ALTINDİŞ, Gülsüm KAYA

Doi: 10.5505/TurkHijyen.2025.24922 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

335 - 360



Investigation of phenotypic and genotypic characteristics of *Acinetobacter baumannii* isolated from clinical samples

Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii*'nin fenotipik ve genotipik özelliklerinin araştırılması

Nezahat KOŞAR¹ (ID), Djursun KARASARTOVA² (ID), Ayşe Semra GÜRESER³ (ID), Ayşegül TAYLAN ÖZKAN⁴ (ID)

ABSTRACT

Objective: *Acinetobacter baumannii* strains are common nosocomial pathogens worldwide. Our study aimed to determine the antibiotic resistance rate, bla_{OXA} and ISAbal genes, metallo-beta-lactamases production, biofilm formation, and clonal classification of *A. baumannii* isolated from clinical samples in Çorum Erol Olçok Training and Research Hospital, Türkiye. It was also aimed to describe the plasmid profile and analyze the association between genes, clones, and plasmids.

Methods: Ninety-eight *A. baumannii* isolated between 2018 and 2019 were included in the study. Antibiotic susceptibility tests were determined with Vitek 2. The reference broth microdilution method was used to assess colistin susceptibility. These results were compared with those obtained from the Vitek 2. A multiplex polymerase chain reaction detected bla_{OXA-23}, bla_{OXA-24/40}, bla_{OXA-51}, and bla_{OXA-58} genes. The ISAbal/bla_{OXA-23} and ISAbal/bla_{OXA-51} genes were analyzed separately via PCR. Genotypes and subtypes of the isolates were determined with the Repetitive Extragenic Palindromic

ÖZET

Amaç: *Acinetobacter baumannii* dünya çapında yaygın bir nosokomial patojendir. Çalışmamızda Çorum Erol Olçok Eğitim ve Araştırma Hastanesine başvuran hastaların klinik örneklerinden izole edilmiş olan *A. baumannii* izolatlarının antibiyotik direnç oranı, bla_{OXA} ve ISAbal genleri, metallo-beta-laktamaz üretimi, biyofilm oluşumu ve klonal sınıflandırmasının belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca plazmid profilini tanımlamak ve genler, klonlar ve plazmidler arasındaki ilişkiyi analiz etmek de amaçlanmıştır.

Yöntem: 2018 ve 2019 yılları arasında izole edilen 98 *A. baumannii* çalışmaya dahil edilmiştir. Antibiyotik duyarlılık testleri Vitek 2 otomatize sistemi ile belirlenmiştir. Kolistin duyarlılığı için referans yöntem olan sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Sıvı mikrodilüsyon ile Vitek 2'den elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. Bla_{OXA-23}, bla_{OXA-24/40}, bla_{OXA-51} ve bla_{OXA-58} genleri multipleks polimeraz zincir reaksiyonu ile tespit edilmiştir. ISAbal/bla_{OXA-23} ve ISAbal/bla_{OXA-51} genleri PCR ile saptanmıştır. İzolatların genotipleri ve alt tipleri

¹Erbaa State Hospital, Microbiology Laboratory, Tokat, Türkiye

²Hitit University, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Çorum, Türkiye

³University of Health Sciences Turkey, Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Oncology Training and Research Hospital, Clinic of Medical Microbiology, Ankara, Türkiye

⁴International Cyprus University, Faculty of Medicine, Nicosia, North Cyprus



İletişim / Corresponding Author : Nezahat KOŞAR

Erbaa Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Tokat - Türkiye

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

Geliş Tarihi / Received : 25.10.2024

Kabul Tarihi / Accepted : 25.01.2025

DOI ID : 10.5505/TurkJHijyen.2025.94752

Koşar N, Karasartova D, Güreser AS, Taylan Özkan A. Investigation of phenotypic and genotypic characteristics of *Acinetobacter baumannii* isolated from clinical samples.. Türk Hij Den Biyol Derg, 2025; 82(2): 209 - 230

PCR method. International clones were investigated by multiplex PCR. The plasmid profiles of the isolates were analyzed using alkaline lysis. Phenotypic methods were preferred for determining biofilm formation and metallo-beta-lactamase production.

Results: *A. baumannii* was identified in deep tracheal aspirate samples (32%), wounds (21%), blood (17%), sputum (15%), urine (9%), tissue biopsy samples (4%), pleural fluid (1%), and cerebrospinal fluid (1%). *A. baumannii* was detected in patient samples from the intensive care unit at a frequency of 58%. Of these isolates, 13% were susceptible to all antibiotics tested, while 45% were found to be extensively drug resistant. The ISAb1/bla_{OXA-23}, ISab1/bla_{OXA-51}, bla_{OXA-23}, and bla_{OXA-51} genes were found in 98.8% of the carbapenem-resistant isolates. bla_{OXA-24/40} and bla_{OXA-58} genes were not detected. The epidemiological distribution of the isolates revealed seven genotypes and 21 subtypes. Genotype D was found, and international clone 2 was classified in the hospital epidemic isolates. It was shown that 73.4% of isolates carried plasmids, which were not identical among isolates. Different biofilm levels were measured in 88% of the isolates. However, more vigorous biofilm formation was detected in isolates sensitive to ceftazidime, imipenem, meropenem, trimethoprim-sulfamethoxazole, and ciprofloxacin.

Conclusion: The bla_{OXA-23} genotype was associated with carbapenem resistance in *A. baumannii* isolates. Genotype D and international clone 2 were defined as endemic isolates in our hospital, and no similarity was found between susceptible and resistant isolates in terms of plasmid profiles, genotypes, and clonality. Stronger biofilm formation was detected in isolates susceptible to ceftazidime, imipenem, meropenem, trimethoprim-sulfamethoxazole, and ciprofloxacin, and more comprehensive studies are needed on the relationship between biofilm formation and antibiotic resistance.

Key Words: *Acinetobacter baumannii*, antibiotic resistance, REP-PCR, plasmid, biofilm

Repetitive Extragenic Palindromic PCR yöntemi ile belirlenmiştir. Uluslararası klonlar multipleks PCR ile araştırılmıştır. İzolatların plazmid profilleri ise alkali lizis yöntemi ile saptanmıştır. Biyofilm oluşumu ve metallo-beta-laktamaz üretiminin belirlenmesinde ise fenotipik yöntemler kullanılmıştır.

Bulgular: *A. baumannii* derin trakeal aspirat örneklerinde (%32), yarada (%21), kanda (%17), balgamda (%15), idrarda (%9), doku biyopsi örneklerinde (%4), plevral sıvıda (%1) ve beyin omurilik sıvısında (%1) saptanmıştır. Yoğun bakım ünitesinden alınan hasta örneklerinde *A. baumannii* %58 sıklıkta tespit edilmiştir. İzolatların %13'ü test edilen tüm antibiyotiklere duyarlı iken %45'inde yaygın antibiyotik direnci olduğu bulunmuştur. Karbapenem dirençli izolatların %98,8'inde ISAb1/ bla_{OXA-23}, ISAb1/ bla_{OXA-51}, bla_{OXA-23}, bla_{OXA-51} genleri tespit edilmiştir. bla_{OXA-24/40} ve bla_{OXA-58} genleri saptanmamıştır. Epidemiyolojik sınıflandırmada yedi genotip ve 21 alt tip saptanmıştır. Hastane endemik izolatı olarak Genotip D ve uluslararası klon 2 tanımlanmıştır. İzolatların %73,4'ünün plazmid taşıdığı ve bu plazmidlerin izolatlar arasında farklılık gösterdiği belirlenmiştir. İzolatların %88'inde farklı biyofilm seviyeleri ölçülürken seftazidim, imipenem, meropenem, trimetoprim-sülfametoksazol ve siprofloksasine duyarlı izolatlarda daha güçlü biyofilm oluşumu tespit edilmiştir.

Sonuç: *A. baumannii* izolatlarında bla_{OXA-23} genotipi karbapenem direnci ile ilişkilidir. Genotip D ve uluslararası klon 2 hastanemizin endemik izolatı olarak tanımlanmış olup izolatların plazmid profilleri, genotipler ve klonalite açısından duyarlı ve dirençli izolatlar arasında benzerlik saptanmamıştır. Seftazidim, imipenem, meropenem, trimetoprim-sülfametoksazol ve siprofloksasine duyarlı izolatlarda daha güçlü biyofilm oluşumu tespit edilmiştir ve biyofilm oluşumu ile antibiyotik direnci arasındaki ilişki konusunda daha geniş kapsamlı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç olduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, antibiyotik direnci, REP-PCR, plazmid, biyofilm

INTRODUCTION

Acinetobacter baumannii is a gram-negative coccobacillus and a crucial nosocomial pathogen rapidly developing antibiotic resistance (1). Minimum inhibitory concentration (MIC) against imipenem, the safest treatment option, has reached an alarming level. In addition, colistin-resistant isolates have been reported, and treatment options for *A. baumannii* have become very limited (2). OXA-type β -lactamases and metallo- β -lactamases (MBLs) produced by bacteria are mainly responsible for carbapenem resistance (CR) (3). β -lactamases (bla) of the bla_{OXA-51} group are naturally produced in *Acinetobacter* species (2). *A. baumannii* can also produce bla_{OXA-23}, bla_{OXA-24/40}, bla_{OXA-58}, bla_{OXA-143}, and bla_{OXA-235}. Global epidemiological surveillance of dominant drug-resistant strains is necessary, and *A. baumannii* strains (international clone, IC) were identified following the European outbreak (3). Some studies have shown that plasmids carried by *A. baumannii* are essential in acquiring resistance genes, and plasmids are used as markers in epidemiological studies (4). Our study aimed to determine the antibiotic resistance rate, blaOXA and ISAbal genes, metallo- β -lactamases production, biofilm formation, and IC classification of *A. baumannii* isolated from clinical samples in Çorum Erol Olçok Training and Research Hospital, Türkiye. It was also aimed to describe the plasmid profile and analyze the association between genes, clones, and plasmids.

MATERIAL and METHOD

Bacterial strains

The study was conducted from April 1, 2018, to April 30, 2019, at the Medical Microbiology Laboratory of Çorum Erol Olçok Training and Research Hospital. Ninety-eight *A. baumannii* strains isolated from various patient samples (the first isolate from each patient) were included in the study. After identifying and antibiotic susceptibility testing of the strains

by both manual and automated techniques (Vitek 2 Compact, bioMérieux, Marcy l'Étoile, France), isolates were suspended in 15% glycerol lysogeny broth (LB) and stored at -80°C for further research.

Antimicrobial susceptibility tests

The Vitek 2 Compact system was used to detect the antibiotic susceptibility of isolates according to the European Committee on Antimicrobial Resistance Testing (EUCAST) standards (5). Both the automated system and the reference broth microdilution (BMD) method were used to detect colistin susceptibility (6). Categorical agreement (CA) of test results was defined using the definitions of the International Organization for Standardization (ISO) 20776-2:2021 (7). Isolates detected as colistin-sensitive by Vitek 2 but resistant by BMD were categorized as a significant error (VME). In contrast, colistin-resistant isolates detected by Vitek 2 but susceptible by BMD were classified as a substantial error (ME). Standardized international terminology was used for the various resistance patterns in *A. baumannii* isolates, categorized as multidrug-resistant (MDR), extensively drug-resistant (XDR), and pan-drug-resistant (PDR) (8). MDR was defined as acquired resistance to at least one agent across three or more antimicrobial categories, XDR is defined as resistance to at least one agent in all but two or fewer antimicrobial categories (indicating that bacterial isolates remain susceptible to only one or two categories), and PDR is defined as resistance to all agents in all antimicrobial categories (8).

PCR of class D- β lactamases genes

DNAs were extracted by Tissue δ Bacterial DNA Purification Kit (The EURx Gene MATRIX) and then stored at -20°C . The gene regions of bla_{OXA-23}, bla_{OXA-24/40}, bla_{OXA-51}, and bla_{OXA-58} were studied using multiplex polymerase chain reaction (mPCR) (9). The ISAbal/ bla_{OXA-23} and ISAbal/ bla_{OXA-51} genes were investigated separately with the PCR (10).

Metallo- β -lactamases combination disk diffusion test

0.5 McFarland bacterial suspensions were

inoculated on Mueller-Hinton agar (MHA) plates. Two imipenem (10 µg) disks were placed 22 mm apart on the surface of the medium. 10 µL of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) (0.5 M, pH: 8) was dropped in one of the imipenem disks. The plates were incubated for 18 hours at 35°C. Isolates were classified as MBL producers when the inhibition zone diameter of the imipenem/EDTA disc was above that of the imipenem disc by 7 mm or more (11).

International clone identification

Two groups of PCR primers were utilised to identify ICs. (12). The PCR methods, target genes, and primer sequences utilized for genotyping *A. baumannii* are presented in Table 1. ICs were determined by evaluating the bands whose molecular size was determined with Group 1 and Group 2 PCR analysis of each sample (13). According to Reboli et al.'s method, the genotypes and subtypes of the isolates were determined with the Repetitive Extragenic Palindromic PCR (REP-PCR) method (14).

Table 1. PCR methods, target genes and primer sequences used for genotyping of *A. baumannii*

Target gene	Method	Primer sequence	Product size (bp)	References
bla-Oxa-51-like-F	Multiplex PCR	5'-TAA TGC TTT GAT CGG CCT TG-3'	353	Woodford et al., 2006
bla-Oxa-51-like-R		5'-TGG ATT GCA CTT CAT CTT GG-3'		
bla-Oxa-58-like-F		5'-AAG TAT TGG GGC TTG TGC TG-3'	599	
bla-Oxa-58-like-R		5'-CCC CTC TGC GCT CTA CAT AC-3'		
bla-Oxa-23-like-F		5'-GAT CGG ATT GGA GAA CCA GA-3'	501	
bla-Oxa-23-like-R		5'-ATT TCT GAC CGC ATT TCC AT-3'		
bla-Oxa-24-like-F		5'-GGT TAG TTG GCC CCC TTA AA-3'	246	
bla-Oxa-24-like-R		5'-AGT TGA GCG AAA AGG GGA TT-3'		
ISAba-1-F	PCR	5'-TGA GAT GTG TCA TAG TAT TC-3'	314	Bahador et al., 2015
OXA-23-R		5'-AGA GCA TTA CCA TAT AGA TT-3'		
ISAba-1-F		5'-AAG CAT GAT GAG CGC AAA G-3'	227	
OXA-51-R		5'-GGT GAG CAG GCT GAA ATA AAA-3'		
Group1ompAF306	Multiplex PCR	5'-GAT GGC GTA AAT CGT GGT A-3'	355	Turton et al., 2007
Group1and2ompAR660		5'-CAA CTT TAG CGA TTT CTG G-3'		
Group1csuEF		5'-CTT TAG CAA ACA TGA CCT ACC-3'	702	
Group1csuER		5'-TAC ACC CGG GTT AAT CGT-3'		
Gp1OXA66F89		5'-GCG CTT CAA AAT CTG ATG TA-3'	559	
Gp1OXA66R647		5'-GCG TAT ATT TTG TTT CCA TTC-3'		
Group2ompAF378	Multiplex PCR	5'-GAC CTT TCT TAT CAC AAC GA-3'	343	Turton et al., 2007
Group1and2ompAR660		5'-CAA CTT TAG CGA TTT CTG G-3'		
Group2csuEF		5'-GGC GAA CAT GAC CTA TTT-3'	580	
Group2csuER		5'-CTT CAT GGC TCG TTG GTT-3'		
Gp2OXA69F169		5'-CAT CAA GGT CAA ACT CAA-3'	162	
Gp2OXA69R330		5'-TAG CTT TTT TTC CCC ATC-3'		
REP1R-I	REP-PCR	5'- IIICGICGICATCIGGC-3'	-	Reboli et al., 1994
REP2-I		5'- ICGICTTATCIGGCCTAC-3'		

REP-PCR, Repetitive Extragenic Palindromic polymerase chain reaction

Plasmid DNA extraction

The Miniprep plasmid DNA isolation method was used for plasmid DNA extraction (15). The following solutions were added to freshly prepared bacterial cultures: Alkaline Lysis Solution (ALS) I (10 mM EDTA, pH:8.0, 50 mM glucose/ 25mM Tris-Cl, 13 µL of RNAase added to 1 mL solution), ALS II (1% SDS/ 0.2 M NaOH), and ALS III (5 M potassium acetate/glacial acetic acid). DNA products were purified and then visualized using a UV transilluminator. The Fragment Size Calculator was used to calculate plasmid sizes. (<http://www.basic.northwestern.edu/biotools/SizeCalc.html>) (16).

Biofilm formation

A single colony of *A. baumannii* grown on LB agar was inoculated into brain-heart infusion broth containing 0.25% glucose (G-BHIB). After incubation at 37°C for 24 hours, the medium was 1/20 diluted with G-BHIB, and 200 µL of the mixture of each strain was dispensed into polystyrene plates in three adjacent wells. The microplates were washed with phosphate-buffered saline (PBS) X1 after 48 hours of incubation at 37°C in a shaker water bath and dried at room temperature. The residue was stained for 15 minutes with 1% crystal violet, washed with PBS, and dried at room temperature for 20 minutes. 200 µL of ethanol/acetone solution (80/20) was added to each well. Optical density (OD) was measured using a spectrophotometer at a wavelength of 590 nm. Based on the OD measurement, biofilm formation was classified as follows: OD < 1 negative; 1 < OD < 2 low level (+); 2 < OD < 3 moderate level (++); and OD > 3 high level (+++). As a quality control measure, the *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 strain was used (17).

Biofilm imaging with scanning electron microscopy

Five isolates with high, medium, low, and negative OD values were selected for imaging using scanning electron microscopy (SEM). These isolates and the positive control strain (*S. aureus* ATCC 25923) were tested on ceramic surfaces by modifying Patenge's

method (18).

Approximately 30 fields of view of each sample were scanned with SEM. Bacterial adhesion and aggregation in each area were evaluated. In the SEM imaging, if the bacteria in the 10,000 × magnification covered more than 80% of the field, it was classified as high OD; bacteria covering 50-80% of the field it was classified as medium OD; bacteria covering 10-50% of the field was classified as low OD; and bacteria covering less than 10% of the field was classified as negative OD.

Statistical analysis

SPSS version 21.0 (IBM Corp, Armonk, NY, USA) was used for data analysis. P values <0.05 were determined as statistically significant. For continuous variables with a normal distribution, results were presented as the mean ± standard deviation, Student's t-test was used to compare means between two groups, and analysis of variance (ANOVA) was used to compare means between three or more groups. For continuous variables with a non-normal distribution, results were reported as the median and range, and the Mann-Whitney U test was used to compare means between two groups, and the Kruskal-Wallis test was used to compare means between three or more groups. Chi-squared or Fisher's exact tests were used for intergroup comparisons of categorical variables. Spearman's correlation coefficient was used to assess the correlation between two continuous variables with a non-normal distribution.

The study was approved by the Hitit University Non-Interventional Clinical Research Ethics Committee (Date: 25.10.2018 and Number: 2018-173).

RESULTS

A. baumannii was identified in deep tracheal aspirate samples (DTA) (32%), wounds (21%), blood (17%), sputum (15%), urine (9%), tissue biopsy samples (4%), pleural fluid (1%), and cerebrospinal fluid (1%). *A. baumannii* was detected in patient samples from the intensive care unit (ICU) at a frequency of 58%.

Antimicrobial susceptibility results

According to the antibiotic resistance profiles of the isolates, 45% were XDR, and 42% were MDR. Antibiotic resistance levels for ceftazidime (CAZ), imipenem (IPM), meropenem (MEM), and ciprofloxacin (CIP) have been recorded at 86.7% each. The resistance rates to other antibiotics were determined as follows: gentamicin (CN), 73.4%; amikacin (AK), 60.2%; trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT), 60.2%; tigecycline (TGC), 2%; and colistin (CT), 8.1%.

There were eight colistin-resistant isolates with BMD. Using Vitek 2, six had MICs ≤ 0.5 mg/L, and they gave false-susceptible results. The rate of VMEs was 75%, but no MEs were observed in the susceptibility test of *A. baumannii* isolates. The positive predictive value (PPV) of the Vitek 2 for detecting resistant

isolate was 25% (2/8), while the negative predictive value (NPV) was 100% (90/90). The results of antibiotic susceptibility tests of isolates are shown in Table 2.

Distribution of carbapenemase genes

Ninety-three (94.8%) isolates were bla_{OXA-51} carbapenemase genotype, while 84 (85.7%) were bla_{OXA-23} genotype. 84 (85.7%) isolates were ISAb1/bla_{OXA-51} + ISAb1/bla_{OXA-23} genotype. The genes linked to the bla_{OXA-24}/40 and bla_{OXA-58} groups were undetected.

The bla_{OXA-23}, bla_{OXA-51}, ISAb1/bla_{OXA-23}, and ISAb1/bla_{OXA-51} genes were detected in 98.8% of CR isolates, and they were detected as significantly higher in the CR groups (all $p < 0.001$).

Table 3 shows the distribution of bla genes based on the isolates' carbapenem susceptibility.

Table 2. Antimicrobial resistance rates of *A. baumannii* isolates

Antimicrobial Agent	Antimicrobial Resistance Rates	
	R% (n/N)	I % (n)
Imipenem	86.7 (85/98)	0
Meropenem	86.7 (85/98)	0
Ceftazidime	86.7 (85/98)	-
Ciprofloxacin	86.7 (85/98)	1 (1/98)
Gentamicin	73.4 (72/98)	-
Amikacin	60.2 (59/98)	-
Trimethoprim-Sulfamethoxazole-	60.2 (59/98)	0
Tigecycline	2 (2/98)	20.4 (20/98)
Colistin (Vitek 2)	2 (2/98)	-
Colistin (BMD)	8.1 (8/98)	-

Table 3. Distribution of bla genes and the carbapenem susceptibility of isolates

Genes	CRAB n=85 % (n)	CSAB n=13 % (n)	All isolates n=98 % (n)
blaOXA-51	98.8 (84)	69.2 (9)	94.8 (93)
blaOXA-23	98.8 (84)	0 (0)	85.7 (84)
blaOXA-24/40	0 (0)	0 (0)	0 (0)
blaOXA-58	0 (0)	0 (0)	0 (0)
ISAb1/blaOXA-51	98.8 (84)	38.4 (5)	90.8 (89)
ISAb1/blaOXA-23	98.8 (84)	0 (0)	85.7 (84)

Carbapenem-resistant *A. baumannii* (CRAB), Carbapenem-susceptible *A. baumannii* (CSAB)

Clusters, clones, plasmids, and biofilm formation

The isolates' local epidemiological distributions and band patterns were identified by repetitive-element PCR (REP-PCR). In our study, seven genotypes and 21 subtypes were detected. These subtypes belonged to eight different clusters, and 13 isolates were classified under a single pattern and did not show similarities to the other isolates. Genotype D was detected in 52 (53%) of the isolates and was determined to be the endemic strain of our hospital. Although seven different clone groups were detected by multiplex PCR, five isolates did not belong to a clone. IC 2 was the dominant international clone in our hospital, constituting 71 isolates (73%) of the isolates. The distribution characteristics of IC strains of the isolates are summarized in Supplementary Table 1.

Plasmid DNA extraction showed that 73.4% of *A. baumannii* isolates carried one to six plasmids varying between 1.3 and 50.2 Kb, and these plasmids were heterogeneously distributed among the isolates. Plasmids were detected in 74.1% (63/85) of the CR

isolates and 69.2% (9/13) of the susceptible isolates.

All colistin-resistant isolates had plasmids, and only two isolates had identical plasmid profiles, while the remaining isolates displayed distinct patterns. All isolates' genotypes, IC distribution, and plasmid characterisation information are included in Supplementary Table 2.

It was defined that 20% (20/98) of the isolates formed a high-level biofilm, 33% (32/98) a medium level of biofilm, 35% (34/98) a low level of biofilm, and 12% (12/98) did not form biofilm.

The distribution of biofilm measurement results of the isolates according to the resistance group is shown in Figure 1. SEM images of biofilm formation are shown in Figure 2. A statistically significant difference was seen between the resistance groups and the level of biofilm formation ($p = 0.024$). The strains susceptible to CAZ, IPM, MEM SXT, and CIP formed stronger biofilms than those resistant to these antibiotics. ($p = 0.007$, $p = 0.007$, $p = 0.007$, $p < 0.001$, and $p = 0.012$, respectively) (Table 4).

Table 4. The relationship between biofilm formation level and antibiotic resistance

	Biofilm OD (590 nm)		P
	Resistance Median (25p-75p)	Sensitive Median (25p-75p)	
Ceftazidime	1.98 (1.18-2.75)	2.86 (2.06-3.14)	0.007
Gentamicin	1.98 (1.35-2.70)	2.64 (1.77-3.22)	0.059
Amikacin	2.01 (1.4-2.8)	2.3 (1.42-2.92)	0.689
Imipenem	1.98 (1.18-2.75)	2.86 (2.06-3.14)	0.007
Meropenem	1.98 (1.18-2.75)	2.86 (2.06-3.14)	0.007
SXT	1.85 (1.12-2.46)	2.86 (1.98-3.27)	<0.001
Ciprofloxacin	1.98 (1.18-2.75)	2.88 (2.04-3.17)	0.012
Tigecycline	2.17 (0.95-)	2 (2.82-1.35)	0.973
Colistin	2.61 (1.51-3.43)	2.16 (1.4-2.81)	0.695

SXT, sulfamethoxazole-trimethoprim

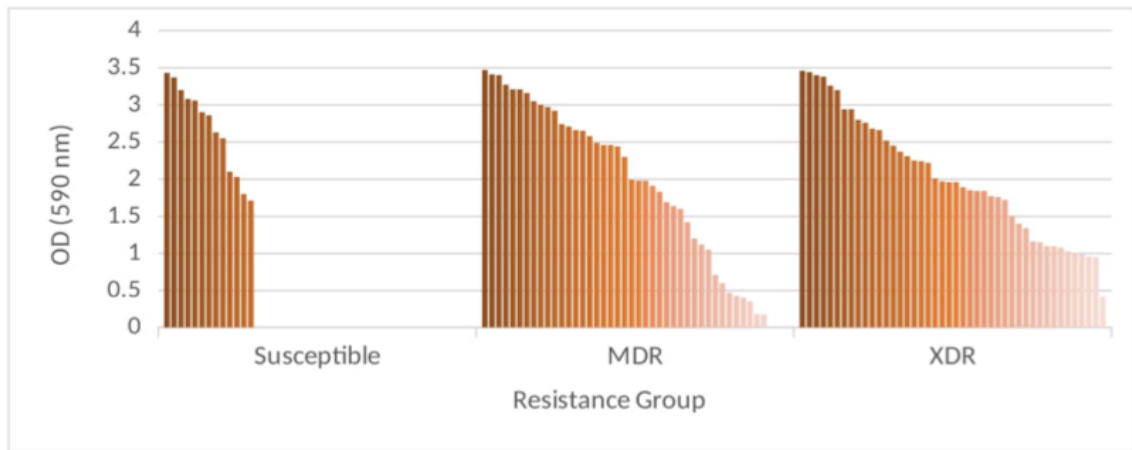


Figure 1. Biofilm formation levels of *A. baumannii* strains in different resistance groups

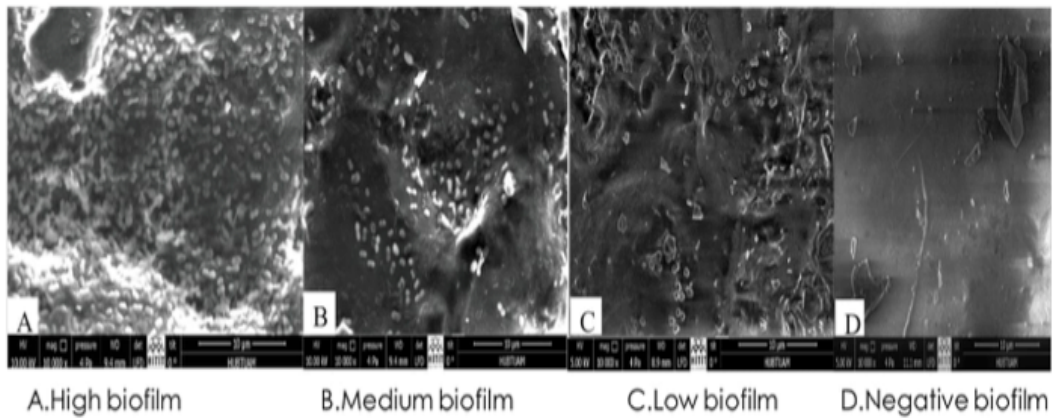


Figure 2. Biofilm formation of *A. baumannii* on ceramic surface, imaging by SEM

Supplementary Table 1. Epidemiological data, phenotypic characteristics and resistance genes of *A. baumannii*

Strain	Epidemiological Data			Phenotypic Characteristics				Resistance Genes				
	Cluster	IC	Sample	Ward	Carbapenem Resistance	MBL	Biofilm	blaOXA-51	blaOXA-23	blaOXA-24/40-58	ISAbal/blaOXA-51	ISAbal/blaOXA-23
5	A	IC1	DTA	ICU	+	-	-	+	+	-	+	+
6	D	IC2	wound	ICU	+	-	++	+	+	-	+	+
7	E	IC2	DTA	ICU	+	+	-	+	+	-	+	+
8	D	-	blood	ICU	+	-	-	-	-	-	-	-
9	D	IC2	urine	ICU	+	+	+	+	+	-	+	+
10	D	IC2	urine	Out	+	+	-	+	+	-	+	+
11	A	IC1	blood	ICU	+	+	-	+	+	-	+	+
12	D	IC2	urine	PACA	+	+	+	+	+	-	+	+
13	D	IC2	wound	TH	+	+	+	+	+	-	+	+
14	A	IC1	blood	TH	+	-	+	+	+	-	+	+
15	E	IC2	sputum	ICU	+	+	+	+	+	-	+	+
17	A	IC1	wound	ICU	+	+	-	+	+	-	+	+
18	D	IC2	blood	ICU	+	+	+	+	+	-	+	+
19	D	IC2	wound	ORTO	+	+	+	+	+	-	+	+
20	G	-	blood	ONCO	-	-	+	-	-	-	-	-
21	E	IC2	urine	BS	+	+	+	+	+	-	+	+
22	B	G13	urine	IM	-	-	++	+	-	-	+	-
23	E	IC2	wound	TH	+	+	++	+	+	-	+	+
24	E	IC2	wound	INF	+	+	+	+	+	-	+	+
25	A	IC1	sputum	ICU	+	+	+	+	+	-	+	+
26	D	IC2	blood	ICU	+	+	++	+	+	-	+	+
27	F	-	blood	ICU	-	-	++	-	-	-	-	-
28	D	IC2	pleural fluid	TH	+	+	++	+	+	-	+	+
29	C	G5	sputum	ICU	-	-	++	+	-	-	+	-
30	C	G5	sputum	ICU	-	-	+++	+	-	-	+	-
31	E	IC2	sputum	TH	+	+	+	+	+	-	+	+
32	E	IC2	wound	TH	+	+	+	+	+	-	+	+
33	E	IC2	wound	TH	+	+	++	+	+	-	+	+
34	D	IC2	sputum	TH	+	+	+	+	+	-	+	+

Supplementary Table 1 (cont.). Epidemiological data, phenotypic characteristics and resistance genes of *A. baumannii*

Strain	Cluster		Epidemiological Data			Phenotypic Characteristics				Resistance Genes			
			IC	Sample	Ward	Carbapenem Resistance	MBL	Biofilm	blaOXA-51	blaOXA-23	blaOXA-24/40-58	ISAbal/blaOXA-51	ISAbal/blaOXA-23
35	A	IC1	Tissue biopsy	PACA	+	+	-	+	+	-	+	+	
36	D	IC2	blood	ICU	+	+	++	+	+	-	+	+	
37	A	IC1	DTA	ICU	+	+	+++	+	+	-	+	+	
38	A	IC1	blood	ICU	+	+	+++	+	+	-	+	+	
39	D	G13	urine	PEDI	-	-	++	+	-	-	+	-	
41	D	IC2	blood	ICU	+	+	++	+	+	-	+	+	
42	A	IC1	DTA	ICU	+	+	-	+	+	-	+	+	
44	D	IC2	blood	ICU	+	+	++	+	+	-	+	+	
45	E	IC2	sputum	TH	+	+	+	+	+	-	+	+	
46	E	IC2	sputum	TH	+	+	+	+	+	-	+	+	
47	D	IC2	blood	ICU	+	+	++	+	+	-	+	+	
48	D	IC2	DTA	PACA	+	+	+	+	+	-	+	+	
49	F	IC2	DTA	ICU	+	+	+	+	+	-	+	+	
50	D	IC2	DTA	ICU	+	+	++	+	+	-	+	+	
51	E	IC2	sputum	CA	+	+	++	+	+	-	+	+	
52	D	IC2	DTA	ICU	+	+	++	+	+	-	+	+	
53	D	IC2	Tissue biopsy	ORTHO	+	+	++	+	+	-	+	+	
54	D	IC2	wound	ORTHO	+	+	+	+	+	-	+	+	
55	E	IC2	DTA	ICU	+	+	++	+	+	-	+	+	
56	G	IC2	DTA	ICU	+	+	++	+	+	-	+	+	
57	D	IC2	DTA	ICU	+	-	+	+	+	-	+	+	
58	E	IC2	DTA	ICU	+	-	++	+	+	-	+	+	
59	D	IC2	DTA	ICU	+	-	+	+	+	-	+	+	
60	D	IC2	wound	ORTHO	+	-	+	+	+	-	+	+	
61	D	IC2	DTA	ICU	+	-	+	+	+	-	+	+	
62	D	IC2	DTA	ICU	+	-	+	+	+	-	+	+	
63	D	IC2	DTA	ICU	+	-	+	+	+	-	+	+	
64	D	IC2	blood	ICU	+	+	++	+	+	-	+	+	

Supplementary Table 1(cont.). Epidemiological data, phenotypic characteristics and resistance genes of *A. baumannii*

Epidemiological Data				Phenotypic Characteristics			Resistance Genes					
Strain	Cluster	IC	Sample	Ward	Carbapenem Resistance	MBL	Biofilm	blaOXA-51	blaOXA-23	blaOXA-24/40-58	ISAbal/blaOXA-51	ISAbal/blaOXA-23
65	D	G5	wound	FTR	-	-	++	+	-	-	-	-
66	B	G6	wound	ORTHO	-	-	+	+	-	-	-	-
67	A	IC1	Tissue biopsy	DIFO	+	+	+	+	+	-	+	+
68	E	G5	blood	ICU	-	-	+++	+	-	-	-	-
70	B	-	sputum	TH	-	-	+++	-	-	-	-	-
72	D	IC2	blood	ICU	+	+	++	+	+	-	+	+
73	D	IC2	sputum	PACA	+	-	++	+	+	-	+	+
74	A	IC1	Tissue biopsy	DIFO	+	+	++	+	+	-	+	+
75	F	IC2	sputum	PACA	+	-	++	+	+	-	+	+
77	E	IC2	DTA	ICU	+	+	+++	+	+	-	+	+
78	D	IC2	wound	GS	+	+	-	+	+	-	+	+
79	A	IC1	DTA	ICU	+	+	+	+	+	-	+	+
80	F	IC2	sputum	TH	+	+	+++	+	+	-	+	+
81	D	IC2	sputum	PACA	+	-	+	+	+	-	+	+
82	D	IC2	sputum	GS	+	+	++	+	+	-	+	+
83	D	IC2	DTA	ICU	+	+	++	+	+	-	+	+
84	D	IC2	wound	ORTHO	+	+	+++	+	+	-	+	+
85	E	G4	wound	ICU	+	+	-	+	+	-	+	+
87	D	IC2	DTA	ICU	+	+	+	+	+	-	+	+
88	B	G8	DTA	ICU	-	-	++	+	-	-	+	-
89	B	G4	urine	PACA	-	-	+++	+	-	-	-	-
91	E	-	DTA	ICU	-	-	+++	-	-	-	-	-
92	D	IC2	wound	PACA	+	+	+++	+	+	-	+	+
93	D	IC2	DTA	ICU	+	+	+++	+	+	-	+	+
94	D	IC2	DTA	ICU	+	+	++	+	+	-	+	+
95	E	IC2	DTA	ICU	+	+	+++	+	+	-	+	+
96	D	IC2	CSF	ICU	+	+	+++	+	+	-	+	+
97	D	IC2	DTA	ICU	+	+	+++	+	+	-	+	+

Supplementary Table 1 (cont.). Epidemiological data, phenotypic characteristics and resistance genes of *A. baumannii*

Strain	Epidemiological Data				Phenotypic Characteristics				Resistance Genes			
	Cluster	IC	Sample	Ward	Carbapenem Resistance	MBL	Biofilm	blaOXA-51	blaOXA-23	blaOXA-24/40-58	ISAba1/blaOXA-51	ISAba1/blaOXA-23
98	E	IC2	wound	ORTHO	+	+	+++	+	+	-	+	+
99	E	IC2	wound	ICU	+	+	+++	+	+	-	+	+
100	D	IC2	DTA	ICU	+	+	++	+	+	-	+	+
101	D	IC2	blood	ICU	+	+	+++	+	+	-	+	+
103	D	IC2	urine	ICU	+	+	+++	+	+	-	+	+
104	D	IC2	DTA	ICU	+	+	+++	+	+	-	+	+
105	D	IC2	urine	ICU	+	+	-	+	+	-	+	+
106	D	IC2	DTA	ICU	+	+	+	+	+	-	+	+
107	D	IC2	blood	ICU	+	+	+	+	+	-	+	+
108	E	IC2	wound	GS	+	+	-	+	+	-	+	+
109	D	IC2	DTA	ICU	+	+	+	+	+	-	+	+
110	D	IC2	DTA	ICU	+	+	+	+	+	-	+	+
111	D	IC2	wound	GS	+	+	++	+	+	-	+	+

BS, Brain Surgery; CA, Cardiology; CSF, cerebrospinal fluid; DIFO, diabetic foot; DTA, deep tracheal aspiration;
 GS, General Surgery; ICU, intensive care unit; IM, Internal Medicine; INF, infection; IC, international clone; MBL, metallo-beta-lactamase; ONCO,
 Oncology; ORTHO, Orthopedics; Out, outpatient; PACA, Palliative Care; PEDI, Pediatrics; TH, Thoracic.

Supplementary Table 2. Genotype, IC distribution and plasmid characterization of *A. baumannii*

Isolate No	Antibiotic resistance	Number of plasmids	Size of plasmids (Kb)	IC	Genotype
5	CAZ, IPM, MEM, CN, CIP, SXT	4	38.5, 32.2, 1.7, 1.3	IC1	A
6	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	-	-	IC2	D
7	CAZ, IPM, MEM, CIP, SXT	-	-	IC2	E
8	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, CT	5	50.2, 23.1, 3.7, 2.6, 2.3	-	D
9	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	5	50.2, 23.1, 3.7, 2.6, 2.3	IC2	D
10	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP	-	-	IC2	D
11	CAZ, IPM, MEM, CN, CIP, SXT	4	49, 33.3, 1.9, 1.4	IC1	A
12	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP	-	-	IC2	D
13	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	3	26.2, 14, 5.1	IC2	D
14	CAZ, IPM, MEM, CN, CIP, SXT	4	49, 33.3, 1.9, 1.4	IC1	A
15	CAZ, IPM, MEM, CIP, SXT	2	22.4, 6	IC2	E
17	CAZ, IPM, MEM, CN, CIP, SXT	4	49, 33.3, 1.9, 1.4	IC1	A
18	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, CT	2	19, 6.1	IC2	D
19	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	-	-	IC2	D
20	-	-	-	-	G
21	CAZ, IPM, MEM, CIP, SXT	-	-	IC2	E
22	-	2	42.3, 5.4	G13	B
23	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	4	49.2, 26, 2.1, 1.5	IC2	E
24	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	-	-	IC2	E
25	CAZ, IPM, MEM, CN, CIP, SXT	4	38.5, 32.2, 1.7, 1.3	IC1	A
26	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP	-	-	IC2	D
27	-	4	41.1, 10.9, 6.1, 4	-	F
28	CAZ, IPM, MEM, CN, CIP	-	-	IC2	D
29	-	2	6.3, 5.1	G5	C
30	-	2	6.3, 5.1	G5	C
31	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	1	27.4	IC2	E
32	CAZ, IPM, MEM, CN, CIP, SXT	1	25	IC2	E
33	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	-	-	IC2	E
34	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	-	-	IC2	D
35	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT, TGC	-	-	IC1	A
36	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP	-	-	IC2	D

Supplementary Table 2 (cont.). Genotype, IC distribution and plasmid characterization of *A. baumannii*

Isolate No	Antibiotic resistance	Number of plasmids	Size of plasmids (Kb)	IC	Genotype
37	CAZ, IPM, MEM, CIP	4	49, 33.3, 1.9, 1.4	IC1	A
38	CAZ, IPM, MEM, CIP	4	49, 33.3, 1.9, 1.4	IC1	A
39	-	2	6.3, 5.1	G13	D
41	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP	-	-	IC2	D
42	CAZ, IPM, MEM, CIP	1	25.1	IC1	A
44	CAZ, IPM, MEM, CIP	5	38.5, 28.4, 15.4, 2.5, 1.6	IC2	D
45	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	4	27.4, 23.5, 2.5, 1.6	IC2	E
46	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	4	27.4, 23.5, 2.5, 1.6	IC2	E
47	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	5	15.4, 6.1, 3.71, 2.5, 1.6	IC2	D
48	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP	2	21.5, 6.3	IC2	D
49	CAZ, IPM, MEM, CN, CIP, SXT	2	21.5, 6.3	IC2	F
50	CAZ, IPM, MEM, CN, CIP, SXT	5	44, 28, 12.9, 2.4, 1.6	IC2	D
51	CAZ, IPM, MEM, CN, CIP, SXT	2	17.6, 6.3	IC2	E
52	CAZ, IPM, MEM, CN, CIP, SXT	5	44, 28, 12.9, 2.4, 1.6	IC2	D
53	CAZ, IPM, MEM, CN, CIP, SXT	5	44, 28, 12.9, 2.4, 1.6	IC2	D
54	CAZ, IPM, MEM, CN, CIP, SXT	5	44, 28, 12.9, 2.4, 1.6	IC2	D
55	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	2	17.6, 6.3	IC2	E
56	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	4	24, 14.7, 6.5, 1.4	IC2	G
57	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	-	-	IC2	D
58	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	2	17.6, 6.3	IC2	E
59	CAZ, IPM, MEM, CN, CIP, SXT	4	29.1, 28.1, 16.6, 4.8	IC2	D
60	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	1	6.1	IC2	D
61	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	6	29.1, 28.1, 16.6, 4.8, 2.4, 1.5	IC2	D
62	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT, CT	6	29.1, 28.1, 16.6, 4.8, 2.4, 1.5	IC2	D
63	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	6	29.1, 28.1, 16.6, 4.8, 2.4, 1.5	IC2	D
64	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	-	-	IC2	D
65	-	1	9.4	G5	D
66	-	-	-	G6	B
67	CAZ, IPM, MEM, AK, CIP	6	6.1, 4.4, 1.9, 1.7, 1.4, 1.3	IC1	A
68	-	-	-	G5	E
70	-	-	-	-	B

Supplementary Table 2 (cont.). Genotype, IC distribution and plasmid characterization of *A. baumannii*

Isolate No	Antibiotic resistance	Number of plasmids	Size of plasmids (Kb)	IC	Genotype
72	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	3	17.6, 6.3, 1.6	IC2	D
73	CAZ, IPM, MEM, CN, CIP, SXT	-	-	IC2	D
74	CAZ, IPM, MEM, AK, CIP	6	6.1, 4.4, 1.9, 1.7, 1.4, 1.3	IC1	A
75	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	1	6.1	IC2	F
77	CAZ, IPM, MEM, AK, CIP	3	26.2, 14, 5.1	IC2	E
78	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP	-	-	IC2	D
79	CAZ, IPM, MEM, CIP	4	49, 3.3, 1.9, 1.4	IC1	A
80	CAZ, IPM, MEM, CN, CIP, SXT	-	-	IC2	F
81	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	4	14.4, 8.2, 5.5, 1.6	IC2	D
82	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	3	17.6, 6.3, 1.6	IC2	D
83	CAZ, IPM, MEM, CN, CIP, SXT	3	17.6, 6.3, 1.6	IC2	D
84	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	6	29.1, 28.1, 16.6, 4.8, 2.4, 1.5	IC2	D
85	CAZ, IPM, MEM, CIP, SXT	-	-	G4	E
87	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	3	17.6, 6.3, 1.6	IC2	D
88	-	1	39.6	G8	B
89	-	1	6.1	G4	B
91	-	1	10	-	E
92	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, CT	2	21.5, 6.2	IC2	D
93	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP	2	22.6, 6.3	IC2	D
94	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	6	29.1, 28.1, 16.6, 4.8, 2.4, 1.5	IC2	D
95	CAZ, IPM, MEM, AK, CIP, SXT, CT	4	28.5, 15.1, 6, 2	IC2	E
96	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, TGC, CT	2	22.4, 6	IC2	D
97	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, CT	2	22.4, 6	IC2	D
98	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP	2	17.6, 6.3	IC2	E
99	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	1	6.1	IC2	E
100	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	-	-	IC2	D
101	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP	-	-	IC2	D
103	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP	2	22.4, 6	IC2	D
104	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP	2	22.4, 6	IC2	D
105	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	6	44.7, 28.5, 8, 5.1, 2.5, 1.6	IC2	D
106	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	6	44.7, 28.5, 8, 5.1, 2.5, 1.6	IC2	D

Supplementary Table 2 (cont.). Genotype, IC distribution and plasmid characterization of *A. baumannii*

Isolate No	Antibiotic resistance	Number of plasmids	Size of plasmids (Kb)	IC	Genotype
107	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT, CT	3	34, 5.1, 1.6	IC2	D
108	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	2	22.4, 6	IC2	E
109	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	4	45.3, 28.4, 6, 1.6	IC2	D
110	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	6	44.7, 28.5, 8, 5.1, 2.5, 1.6	IC2	D
111	CAZ, IPM, MEM, AK, CN, CIP, SXT	6	44.7, 28.5, 8, 5.1, 2.5, 1.6	IC2	D
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	6	48, 40.4, 30.4, 3.7, 2.1, 1.4	-	-

AK, amikacin; CAZ, ceftazidime; CIP, ciprofloxacin; CN, gentamicin; CT, colistin; IC, international clone; IPM, imipenem; MEM, meropenem; SXT, sulfamethoxazole-trimethoprim, TGC, tigecycline.

DISCUSSION

Numerous studies demonstrate that MDR *A. baumannii* is frequently isolated from the respiratory tract and blood samples of patients in ICU, attributed to extended hospitalization and mechanical ventilation support. In this study, *A. baumannii* was primarily isolated from DTAs (32%) of patients in the ICU (58%), corresponding to the literature (19). Of the isolates with resistance profiles, 45% were XDR, and 42% were MDR.

In our investigation, the highest antibiotic resistance levels for ceftazidime (CAZ), imipenem (IPM), meropenem (MEM), and ciprofloxacin (CIP) have been recorded at 86.7% each. The resistance rates of these antibiotics in this study were above those reported by the Antimicrobial Resistance in the European Union/European Economic Area Network (EARS-Net) in 2020. However, they are consistent with the rates reported by the Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance Network (CAESAR-Net) in 2020 (20, 21).

The colistin resistance frequency was 8.1% using gold standard BMD, whereas it was 2% using Vitek 2. Several studies in the literature research VME and ME rates by comparing the gold standard BMD method with the Vitek 2 automated system for detecting colistin susceptibility (22). In our study, eight isolates were resistant to colistin when tested with BMD, while six of them had a MIC of less than 0.5 mg/L and were susceptible when tested with Vitek 2. VME rate was 75%, but ME was not detected. VME rates have been documented in the literature, ranging from 6.7% to 55.8% (23,24). In our study, the VME rate was 75%, which is above what has been reported in the existing literature, and we concluded that Vitek 2 did not meet the criteria required for method approval due to the high VME rate and low PPD (25%) of the test for detecting resistant isolates.

MBL and Class D β -lactamases production are the most common CR mechanisms in *Acinetobacter* spp. Research on Class D β -lactamases identified the

$\text{bla}_{\text{OXA-51}}$ gene in all CR isolates; however, the $\text{bla}_{\text{OXA-23}}$ gene was the most frequently linked with resistance (25). In the present study, 94.8% of the isolates were the $\text{bla}_{\text{OXA-51}}$ genotype, 85.7% were $\text{bla}_{\text{OXA-23}}$ genotype, and no isolates with $\text{bla}_{\text{OXA-24/40}}$ or $\text{bla}_{\text{OXA-58}}$ genotypes were found. Researchers indicate that the expression of $\text{bla}_{\text{OXA-51}}$ and $\text{bla}_{\text{OXA-23}}$ genes improves CR when stimulated by insertion sequences (IS) like ISAbal (10). Our study found that the $\text{bla}_{\text{OXA-23}}$ and ISAbal/ $\text{bla}_{\text{OXA-23}}$ gene regions were harboured in 98.8% of CR isolates, whereas these genes were absent in all carbapenem-susceptible isolates. Our results are consistent with previous studies, and the $\text{bla}_{\text{OXA-23}}$ genotype was associated as a predictor of CR in the MDR and XDR isolates ($p < 0.001$). $\text{Bla}_{\text{OXA-51}}$ is a natural β -lactamase gene that functions as a genotype-related marker for *A. baumannii* and is responsible for CR when insertion sequence (IS) elements, such as ISAbal, are expressed. While $\text{bla}_{\text{OXA-51}}$ genes are found in most *A. baumannii* isolates, there is some debate about whether these genes are present in all isolates. (26). Detection of the $\text{bla}_{\text{OXA-51}}$ gene is an easy and handy method for identifying *A. baumannii*, whether they are consistently present, and is also specific for this species (27). However, we detected one CR isolate and four susceptible isolates without the $\text{bla}_{\text{OXA-51}}$ gene.

A study by Bahador et al., demonstrated that the ISAbal/ $\text{bla}_{\text{OXA-51}}$ and ISAbal/ $\text{bla}_{\text{OXA-23}}$ genotypes of *A. baumannii* had significantly higher CR rates (10). On the contrary, these high-resistance genotypes were susceptible to imipenem. Turton et al., found that only ISAbal/ $\text{bla}_{\text{OXA-51}}$ genotypes were CR (28). In our study, $\text{bla}_{\text{OXA-51}}$, $\text{bla}_{\text{OXA-23}}$, and related ISAab1/ $\text{bla}_{\text{OXA-51}}$ and ISAbal/ $\text{bla}_{\text{OXA-23}}$ genes were present in 98.8% of the CR isolates, consistent with the literature. ISAab1/ $\text{bla}_{\text{OXA-51}}$ and ISAbal/ $\text{bla}_{\text{OXA-23}}$ genes were detected together in 84 (85.7%) strains.

The MBL production rate of *A. baumannii* isolates is up to 99% worldwide, depending on differences in the tests used in studies (29). In our study, 83.5% of CR strains were MBL producers. In addition, the fact that phenotypic test results could not be confirmed

with genotypic tests is a limitation of our study.

REP-PCR, which is easy to apply, fast, reliable, and highly distinctive, is frequently used in the laboratory to examine the clonal proximity of resistant isolates, determine the source of the epidemic, and control the spread (30). In our study, seven genotypes (A-G) and 21 subtypes of *A. baumannii* were classified. Among the 21 subtypes, eight different clusters were observed, whereas 13 isolates were classified as a single pattern, showing no similarity to other isolates. Genotype D was detected in 53% of the isolates and was found to be the endemic genotype at our hospital.

In a study, IC 2 continued to spread in IMP-resistant *A. baumannii* isolates from 15 hospitals in Italy, Greece, and Spain and was reported to be the dominant clonal lineage in Europe (31). Caldart et al., found that 27 CR *A. baumannii* isolates belonged to IC 1, IC 5, and IC 6 (32). The significant determinants of CR in the IC 1 and IC 5 strains were bla_{OXA-23}, associated with ISAb1 and ISAb3, respectively. In our study, IC 2 was commonly detected in our hospital, consistent with the global data. Genotypes IC 1 and IC 2 tended to be generally MDR and XDR, while genotypes G5, G6, G8, and G13 were susceptible isolates. The majority of IC 2 (49/71) were grouped into Genotype D, and a significant relationship was found between Genotype D and IC 2 ($p < 0.001$).

Studies on plasmids in *A. baumannii* are very limited. In a bioinformatics study conducted by Salgado-Camargo et al., 173 plasmid profiles of *A. baumannii* were analyzed using the GenBank database (NCBI) (33). They determined that the plasmid sizes ranged from 1.1 Kb to 216.7 Kb, with up to six plasmids in one isolate. Only 35.2% of the plasmids carried the resistance gene. In that study, plasmid resistance genes were thought to be acquired by secondary acquisition after the emergence of the lineage, as only a few members of a plasmid lineage have resistance genes. Our study revealed that 73.4% of *A. baumannii* isolates carried plasmids distributed heterogeneously among the isolates. Additionally, no correlation was observed between susceptible

and resistant isolates' genotypes, IC, and plasmid profiles. These findings support the theory that not all *A. baumannii* plasmids carry specific resistance genes and that plasmid conjugation is limited. In addition, the fact that all colistin-resistant strains carried plasmids suggests there may be plasmid-mediated resistance, but plasmid-mediated resistance has not been defined in *A. baumannii* (34).

Numerous studies have examined the correlation between biofilm formation and antibiotic resistance, demonstrating differences in their findings. Some previous studies have found a positive relationship between the biofilm formation capacity of bacteria and antibiotic resistance. A study indicated that 76.9% (173/225) of MDR *A. baumannii* isolates showed biofilm formation; however, no significant correlation was found between biofilm formation and antibiotic resistance (35). Another study reported that susceptible *A. baumannii* strains formed stronger biofilms than the MDR and XDR strains (36). That study also underlined that biofilm formation was higher in isolates sensitive to aminoglycosides, carbapenems, fluoroquinolones, ampicillin-sulbactam, trimethoprim-sulfamethoxazole, tetracycline, and penicillin than in isolates resistant to these antibiotics. Another study reported a negative correlation between antibiotic resistance and biofilm formation by *A. baumannii* (37). In our research, strains susceptible to CAZ, IPM, MEM SXT, and CIP formed stronger biofilms than the strains that were resistant to these antibiotics ($p = 0.007$, $p = 0.007$, $p = 0.007$, $p < 0.001$, and $p = 0.012$, respectively). Further research is required to elucidate the connection between biofilm formation and the development of antibiotic resistance.

In hospital settings, *A. baumannii* is one of the most persistent and opportunistic pathogens that are difficult to control. The survival of *A. baumannii* is due to multifactorial and combined strategies. In our study, CR-related genes and bla_{OXA-23} genes in hospital-acquired *A. baumannii* isolates were encountered as the main determinants

of CR. Resistant bacteria have the potential to cause nosocomial outbreaks, and the selection and application of an appropriate method is needed to determine the dominant genotype. *A. baumannii* can form biofilms; this could be an adaptive mechanism developed for survival in the hospital environment. Our results underline the need for appropriate infection control measures to reduce *A. baumannii* survival and prevent resistance development.

As a result, Genotype D and IC 2 were defined as endemic isolates in our hospital, and no similarity was found between susceptible and resistant isolates regarding plasmid profiles, genotypes, and clonality. More vigorous biofilm formation was detected in isolates susceptible to ceftazidime, imipenem, meropenem, trimethoprim-sulfamethoxazole, and ciprofloxacin, and more comprehensive studies are needed on the relationship between biofilm formation and antibiotic resistance.

ACKNOWLEDGMENTS

* This work was funded by the Hitit University Scientific Research Projects Unit, Grant/Award Number: TIP19001.19.004.

ETHICS COMMITTEE APPROVAL

* The study was approved by the Hitit University Non-Interventional Clinical Research Ethics Committee (Date: 25.10.2018 and Number: 2018-173).

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Almasaudi SB. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. *Saudi J Biol Sci*, 2018; 25: 586-96.
2. Doi Y, Murray G, Peleg AY. *Acinetobacter baumannii*: evolution of antimicrobial resistance-treatment options. *Semin Respir Crit Care Med*, 2015; 36: 85-98.
3. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global challenge of multi-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007; 51: 3741-84.
4. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev*, 2008; 21 (3): 538-82.
5. EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 10.0, 2020. Date of access: 01 January 2020. Available from: <http://www.eucast.org>.
6. EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). Recommendations for MIC determination of colistin (polymyxin E) as recommended by the joint CLSI-EUCAST Polymyxin Breakpoints Working Group. Date of access 22 March 2016. Available from: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Recommendations_for_MIC_determination_of_colistin_March_2016.pdf.
7. ISO - ISO 20776-2:2021- Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems – Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices – Part 2: Evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices against reference broth micro-dilution. Date of access: December 2021. Available from: <https://www.iso.org/standard/79377.html>.
8. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*, 2012; 18 (3): 268-81.
9. Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward ME, Brown S, et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int J Antimicrob Agents*, 2006; 27 (4):351-3.
10. Bahador A, Raoofian R, Pourakbari B, Taheri M, Hashemizadeh Z, Hashemi FB. Genotypic and Antimicrobial Susceptibility of Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: Analysis of ISAbA Elements and bla OXA 23-like Genes Including a New Variant. *Front Microbiol*, 2015; 6: 1249.
11. Yong D, Lee K, Yum JH, Shin HB, Rossolini GM, Chong Y. Imipenem-EDTA Disk Method for Differentiation of Metallo-Beta-Lactamase-Producing Clinical Isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Mikrobiol*, 2002; 40: 3798-801.
12. Turton JF, Gabriel SN, Valderrey C, Kaufmann ME, Pitt TL. Use of sequence-based typing and multiplex PCR to identify clonal lineages of outbreak strains of *Acinetobacter baumannii*. *Clin Microbiol Infect*, 2007; 13: 807-15.
13. Karah N, Sundsfjord A, Towner K, Samuelsen Ø. Insights into the global molecular epidemiology of carbapenem non-susceptible clones of *Acinetobacter baumannii*. *Drug Resist Updat*, 2012; 15 (4): 237-47.
14. Reboli AC, Houston ED, Monteforte JS, Wood CA, Hamill RJ. Discrimination of epidemic and sporadic isolates of *Acinetobacter baumannii* by repetitive element PCR-mediated DNA fingerprinting. *J Clin Mikrobiol*, 1994; 32 (11): 2635-40.
15. Sambrook J, Fritsch ER, & Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
16. Huang XZ, Frye JG, Chahine MA, Glenn LM, Ake JA, Su W, et al. Characteristics of plasmids in multi-drug-resistant Enterobacteriaceae isolated during prospective surveillance of a newly opened hospital in Iraq. *PLoS One*, 2012; 7 (7): e40360.

17. Can F, Kaya M, Bayindir Bilman F, Uncu H, Demirbilek M, Yazıcı AC. Activity of tigecycline on planktonic and sessile cells of *Acinetobacter baumannii*. *Mikrobiyol Bul*, 2009; 43 (4): 587-95.
18. Patenge N, Arndt K, Eggert T, Zietz C, Kreikemeyer B, Bader R, et al. Evaluation of antimicrobial effects of novel implant materials by testing the prevention of biofilm formation using a simple small scale medium-throughput growth inhibition assay. *Biofouling*, 2012; 28 (3): 267-77.
19. Caliskan A, Kirisci Ö. Antibiotic sensitivity and multiple antibiotic resistance of *Acinetobacter* infections in a state hospital in the period 2013-2018. *Turk Bull of Hyg and Exp Bio*, 2020; 77 (4): 487-92.
20. EARS-Net (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network). Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report 2019. Date of access: 18 November 2020. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2019>.
21. CAESAR-Net (Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance Network). Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance -Annual report 2020. Date of access: 01 October 2020. Available from: https://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0003/469200/Central-Asian-and-European-Surveillance-of-Antimicrobial-Resistance.-Annual-report-2020-eng.pdf.
22. Vourli S, Dafopoulou K, Vrioni G, Tsakris A, Pournaras S. Evaluation of two automated systems for colistin susceptibility testing of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother*, 2017; 72 (9): 2528-30.
23. Tanriverdi Caycı Y, Çınar C, Bilgin K, Gur Vural D, Birinci A. Comparison of the Results of the Microdilution and Automated System in Determination of Colistin Resistance. *Journal of Duzce Uni Inst of Health Science*, 2020; 10 (3): 297-301.
24. Şafak B, Tombak Ö, Eren Topkaya A. Kolistin Antimikrobiyal Duyarlılık Testinin Vitek-2 Ve Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemleriyle Karşılaştırmalı Olarak Değerlendirilmesi. *Namık Kemal Tıp Dergisi*, 2020; 8 (1): 73-8.
25. Mugnier PD, Poirel L, Naas T, Nordmann P. Worldwide dissemination of the blaOXA-23 carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*. *Emerg Infect Dis*, 2010; 16: 35-40.
26. Brown S, Amyes S. OXA (beta)-lactamases in *Acinetobacter*: the story so far. *J Antimicrob Chemother*, 2006; 57 (1): 1-3.
27. Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. *J Clin Microbiol*, 2006; 44 (8): 2974-6.
28. Turton JF, Ward ME, Woodford N, Kaufmann ME, Pike R, Livermore DM, et al. The role of ISAbal in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS microbial Lett*, 2006; 258: 72-7.
29. Safari M, Mozaffari Nejad AS, Bahador A, Jafari R, Alikhani MY. Prevalence of ESBL and MBL encoding genes in *Acinetobacter baumannii* strains isolated from patients of intensive care units (ICU). *Saudi J Biol Sci*, 2015; 22 (4): 424-9.
30. Bou G, Cerveró G, Domínguez MA, Quereda C, Martínez-Beltrán J. PCR-based DNA fingerprinting (REP-PCR, AP-PCR) and pulsed-field gel electrophoresis characterization of a nosocomial outbreak caused by imipenem- and meropenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Microbiol Infect*, 2000; 6 (12): 635-43.
31. Nowak J, Zander E, Stefanik D, Higgins PG, Roca I, Vila J, et al. High incidence of pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates collected from patients with ventilator-associated pneumonia in Greece, Italy and Spain as part of the MagicBullet clinical trial. *J Antimicrob Chemother*, 2017; 72 (12): 3277-82.
32. Caldart RV, Fonseca EL, Freitas F, Rocha L, Vicente AC. *Acinetobacter baumannii* infections in Amazon Region driven by extensively drug resistant international clones, 2016-2018. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2019; 25: 114: e190232.

33. Salgado-Camargo AD, Castro-Jaimes S, Gutierrez-Rios RM, et al. Structure and Evolution of *Acinetobacter baumannii* Plasmids. *Front Microbiol*, 2020; 11: 1283.
34. Lima WG, Alves MC, Cruz WS, Paiva MC. Chromosomally encoded and plasmid-mediated polymyxins resistance in *Acinetobacter baumannii*: a huge public health threat. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2018; 37 (6): 1009-19.
35. Thummeepak R, Kongthai P, Leungtongkam U, Sitthisak S. Distribution of virulence genes involved in biofilm formation in multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Int Microbiol*, 2016; 19 (2): 121-9.
36. Qi L, Li H, Zhang C, Liang B, Li J, Wang L, et al. Relationship between antibiotic resistance, biofilm formation, and biofilm-specific resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Front Microbiol*, 2016; 7: 483.
37. Li Z, Ding Z, Liu Y, Jin X, Xie J, Li T, et al. Phenotypic and Genotypic Characteristics of Biofilm Formation in Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Infect Drug Resist*, 2021; 14: 2613-24.

Phenotypic and genotypic analysis of macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* izolatlarında makrolid-lincosamide-streptogramin B direncinin fenotipik ve genotipik analizi

Noura SAED MAHMOUD AETEER¹ (ID), Aylin ALTAY KOÇAK¹ (ID), Hasan Cenk MİRZA¹ (ID), Gizem İNCE CEVİZ¹ (ID), Ahmet BAŞUSTAOĞLU¹ (ID)

ABSTRACT

Objective: In this study, we aimed to characterize the MLSB phenotype and genotypic resistance genes of MRSA and MSSA isolates from Baskent University Hospital, and resistance rates of MSSA and MRSA isolates were compared.

Methods: The study included 50 MSSA and 50 MRSA isolates collected between 2016 and 2022 from the hospital of Baskent University located in Ankara and Adana. First, *S. aureus* isolates were confirmed by catalase and coagulase tests, and the MRSA isolates were confirmed by cefoxitin disc diffusion test. To determine the MLSB resistance, isolates were tested for clindamycin and erythromycin resistance using the disk diffusion test(D-test). According to D-test, resistance phenotypes were detected and resistant phenotypes were screened for resistance genes using PCR. PCR amplification was made using primers specific for *ermA*, *ermB*, *ermC*, and *msrA* genes.

Results: Among 50 MRSA isolates, 25 (50%) were resistant to erythromycin, susceptible to clindamycin, and

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada Başkent Üniversitesi Hastanesi'nde izole edilen MRSA ve MSSA izolatlarının MLSB fenotipi ve genotipik direnç genlerinin karakterize edilmesi amaçlanmış ve MSSA ve MRSA izolatlarının direnç oranları karşılaştırılmıştır.

Yöntem: Çalışmaya Başkent Üniversitesi Ankara ve Adana Hastanelerinden 2016-2022 yılları arasında toplanan 50 MSSA ve 50 MRSA izolatı dahil edilmiştir. İlk olarak *S. aureus* izolatları katalaz ve koagülaz testleri ile, MRSA izolatları ise sefoksitin disk difüzyon testi ile doğrulanmıştır. MLSB direncini belirlemek için izolatlar, disk difüzyon testi (D-test) kullanılarak klindamisin ve eritromisin direnci açısından çalışılmıştır. D-test sonuçlarına göre direnç fenotipleri saptanmış ve dirençli fenotipler polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kullanılarak direnç genleri açısından taranmıştır. *ermA*, *ermB*, *ermC* ve *msrA* genlerine spesifik primerler kullanılarak PZR amplifikasyonu yapılmıştır.

Bulgular: Elli MRSA izolatından 25'i (%50) eritromisine dirençli, klindamisine duyarlı ve D-zonu

¹Baskent University, Department of Medical Microbiology, Ankara, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Aylin ALTAY KOÇAK
Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Ankara - Türkiye
E-posta / E-mail : aynalty@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 03.07.2023
Kabul Tarihi / Accepted : 18.04.2024

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2025.86570

Saed Mahmoud Aeteer N, Altay Koçak A, Mirza HC, İnce Ceviz G, Başustaoğlu A. Phenotypic and genotypic analysis of macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates.. Turk Hij Den Biyol Derg, 2025; 82(2): 231 - 238

showed D-zone positivity, indicating an inducible resistance phenotype (iMLSB). The two (4%) isolates were resistant to clindamycin and erythromycin without the D zone indicating constitutive cMLSB phenotype. Twenty-two(44%) isolates were susceptible to clindamycin and erythromycin with D-zone negative indicating S phenotype. Only one isolate(2%) was susceptible to clindamycin and has erythromycin resistance with absence of D-zone indicating MSB phenotype. While 8(16%) of the fifty MSSA isolates were found to have the D-zone positive iMLSB phenotype resistant to erythromycin, two(4%) isolates were found to have the cMLSB phenotype resistant to both antibiotics without the D-zone. There were 40(80%) isolates that were susceptible to clindamycin and erythromycin without D zone. Resistance genes were examined in a total of 38 samples, including 28 MRSA and 10 MSSA samples. Among the MLSB resistance genes, *ermC* was found positive in 25 MRSA(89.3%) and 4 MSSA(40%) samples. The second most commonly detected gene was *ermA*, which was detected in 4(40%) MSSA isolates but not in any MRSA isolates. The *msrA* gene was confirmed positive in one MRSA sample with the MSB phenotype. All samples were negative for the presence of the *ermB* gene.

Conclusion: In conclusion, iMLSB phenotype was the most common resistance pattern, consistent with previous studies conducted in Turkey, and was more frequently detected among MRSA isolates in this study, which included samples from Ankara and Adana. Among resistance genes for MLSB resistance, the most frequent gene was *ermC* in line with the literature. *ermA* positivity was very less and *ermB* was not detected. Therefore, we can say that the *ermC* gene is more common in this region.

Key Words: *Staphylococcus aureus*, macrolide, lincosamide, streptogramin B, *erm* gene, *msr* gene

pozitif olacak şekilde indüklenebilir direnç fenotipini (iMLSB) göstermiştir. İki (4%) izolat, yapısal direnç fenotipini (cMLSB) gösteren D-zonu negatif, klindamisin ve eritromisin dirençli saptanmıştır. Yirmiiki (%44) izolat ise S fenotipini gösteren D-zonu negatif, klindamisin ve eritromisin duyarlı saptanmıştır. Sadece bir izolat (%2) klindamisine duyarlı, eritromisin dirençli ve MSB fenotipine uygun olarak D-zonu negatif bulunmuştur. Elli MSSA izolatının 8'inin (%16) eritromisine dirençli D-zonu pozitif iMLSB fenotipine sahip olduğu saptanırken, iki (4%) izolatın ise D-zonu olmaksızın her iki antibiyotiğe de dirençli cMLSB fenotipine sahip olduğu bulunmuştur. D-zonu olmayan klindamisin ve eritromisin duyarlı olarak ise, 40 (%80) izolat saptanmıştır. Direnç genleri 28 MRSA ve 10 MSSA örneği olmak üzere toplamda 38 örnekte incelenmiştir. MLSB direnç genlerinden, *ermC*, 25 MRSA (%89,3) ve 4 MSSA örneğinde (%40) pozitif bulunmuştur. İkinci en sık saptanan gen ise *ermA* geni olmuştur; 4 (%40) MSSA izolatında saptanırken, MRSA izolatlarında ise saptanmamıştır. MSB fenotipli bir MRSA örneğinde *msrA* geni pozitif olarak doğrulanmıştır. Tüm örnekler, *ermB* geni varlığı açısından negatif bulunmuştur.

Sonuç: Sonuç olarak, Ankara ve Adana'dan izole edilen izolatlarda gerçekleştirilen bu çalışmada, ülkemizde daha önce yapılan çalışmalarla benzer şekilde, iMLSB fenotipi en yaygın fenotip olarak bulunmuş ve MRSA izolatlarında daha yaygın olduğu görülmüştür. MLSB direnci için direnç genleri arasında en sık görülen gen literatürle uyumlu olarak *ermC* olmuştur. *ermA* pozitifliği ise az sayıda saptanmış ve *ermB* geni hiç saptanmamıştır. Dolayısıyla *ermC* geninin bu bölgede daha yaygın olduğunu söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: *Staphylococcus aureus*, makrolid, linkozamid, streptogramin B, *erm* geni, *msr* geni

INTRODUCTION

Staphylococcus aureus is an opportunistic pathogen which causes various infections, such as

skin infections, abscess, wound infections, and also fatal diseases, such as endocarditis, osteomyelitis, or septicemia (1). Since 1960s, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) is one of the global reasons of

healthcare-associated outbreaks (2). The MRSA rates are increasing in the hospital and community settings in the USA, Asia, and some parts of Europe. MRSA has also been found in Turkish hospitals as an important problem (3). *S. aureus* can cause community or nosocomial infections such as mild skin, soft tissue infections and even fulminant sepsis (4). A cut or a wound on the skin, or any other reason might result in *S. aureus* infection. Transition to the blood circulation is one of the most common reasons for septicemia, endocarditis, toxic shock syndrome, osteomyelitis and pneumonia (5). The treatment of invasive *S. aureus* infections is difficult, therefore serious spread control precautions are needed and a long period of antimicrobial treatment (4).

Methicillin-resistant *S. aureus* strains are resistant to every antibiotic with β -lactam ring, such as carbapenems and cephalosporins. Also, MRSA gains resistance against antibiotics without β -lactam ring such as erythromycin (ERY) and clindamycin (CLI). Resistance to CLI and ERY in staphylococci, happens via ribosomal target site methylation and it is usually encoded by *erm* genes. When strains are resistant to ERY and CLI, this resistance is called constitutive (cMLSB), when strains are ERY resistant and susceptible to CLI in vitro, this resistance is inducible (iMLSB). Inducible resistance can cause difficulties in clinical treatments (6). Beside novel antimicrobials have been presented, clindamycin supports treatment choices with its great pharmacologic features for MSSA and MRSA. Also, for penicillin-allergic patients, clindamycin is a good alternative. However, drug inactivation mechanisms, efflux or target site modification can cause resistance to MLSB antibiotics (7). In the 1980s, MRSA became a major clinical problem in Turkish hospitals. MRSA resistance varied between 7% and 55% across centers. Recently, data from various centers in Turkey for the past 5 years showed that the percentage of MRSA strains was 65.5%. All strains were reported to be susceptible to vancomycin and teicoplanin, but resistance to these drugs may develop (8).

The aim of this study is to detect phenotypic and genotypic MLSB resistance in MRSA and MSSA isolates in Baskent University Hospitals and to compare the resistance rates of MSSA and MRSA isolates.

MATERIAL and METHOD

Phenotypic Tests

Fifty MSSA and 50 MRSA isolates from Baskent University Ankara and Adana Hospitals that were collected between 2016-2022 were included in the study. Firstly, *S. aureus* isolates were confirmed by catalase and coagulase tests. MRSA and MSSA isolates were confirmed by disc diffusion test via cefoxitin disc (30 μ g). To determine the MLSB resistance, isolates were tested for clindamycin (2 μ g) and erythromycin (15 μ g) resistance using the disk diffusion (D-test) test (Bioanalyse, Ankara/ Turkey).

Genotypic Tests

Clindamycin and/or erythromycin resistant MSSA and MRSA isolates were taken to the genotypic tests. DNA isolation was made by boiling method that described before (9). Resistant phenotypes were screened for resistance genes by using polymerase chain reaction (PCR). PCR amplification (7) was performed by using *ermA*, *ermB*, *ermC* (10), *msrA* primers (11) and PCR Mastermix (Solis Biodyne, GermAny). *S. aureus* RN1551, *S. aureus* 6520, *S. aureus* FPR3757, *S. aureus* 15114 reference strains were used as positive controls for *ermA*, *ermB*, *ermC* and *msrA* genes, respectively. Amplicons were loaded on to the 1.5% agarose gel with ethidium bromide and observed via UV light.

Statistical analysis

Since the resistance rates of the MSSA and MRSA isolate groups in the study was compared, "Significance test of the difference between two percentages in independent groups" or "2x2 Chi-square tests in independent groups" or "Fisher's exact test" was used. Type I error probability was taken as $\alpha=0.05$ in all hypothesis tests and SPSS v25.0 package program was used for statistical evaluations. G*Power

3.1.9 program was used while calculating the required sample size to test the research hypothesis.

This study was approved by Baskent University Institutional Review Board (Project no: KA22/361) and supported by Baskent University Research Fund.

RESULTS

The clinical samples were collected and sent to Microbiology Laboratories between March 2016 and October 2022. A hundred *S. aureus* isolates were included in the study. Number of sample types were 33 blood, 35 tissue biopsy, 13 body fluid, 12 wound/pus, 4 sputum, 2 deep tracheal aspirate and 1 respiratory secretion. All samples were sent from different departments such as cardiovascular surgery, nephrology, cardiology, chest diseases, emergency, anesthesia, general surgery, orthopedics and traumatology, pediatric nephrology, plastic surgery, neonatal, obstetrics and gynecology, dermatology, pediatric cardiology, burn treatment, neurology, infectious diseases, otolaryngology, geriatrics, general internal medicine, oncology, neurosurgery, urology, pediatric infectious diseases, endocrinology.

Phenotypic Results

Among all included isolates, 50 of them were methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) and the other 50 were methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), all of them were confirmed by catalase and coagulase tests. We also confirmed methicillin resistance by using cefoxitin discs according to CLSI standards. Both MSSA and MRSA isolates were tested

for erythromycin and clindamycin susceptibility for the MLSB resistance. Among 50 MRSA isolates 25 (50%) isolates were resistant to erythromycin with D-zone positive and susceptible to clindamycin indicating iMLSB phenotype. Two (4%) isolates were resistant to clindamycin and erythromycin without the D-zone indicating cMLSB phenotype. Twenty-two (44%) isolates were susceptible to clindamycin and erythromycin with D-zone negativity. Only one isolate (2%) was susceptible to clindamycin and has erythromycin resistance with absence of D-zone indicating MSB phenotype. Among all 50 MSSA isolates; 8 (16%) isolates were iMLSB phenotype and 2 (4%) isolates were cMLSB phenotype. There were 40 (80%) isolates that were susceptible to both erythromycin and clindamycin without D-zone.

Comparison of the MLSB phenotypes with the methicillin resistance were given in Table 1. The phenotypic difference between methicillin-susceptible and resistant groups is statistically significant with 95% confidence due to the iMLSB and ERY/CLI susceptible phenotypes ($p < 0.05$).

Genotypic Results

We studied the resistance genes *ermA*, *ermB*, *ermC* and *msrA* in 28 MLSB resistant samples of MRSA and 10 MLSB resistant samples of MSSA from a total of 38 samples. The most common gene was *ermC* due to 25 positive samples (89.3%) for MRSA samples and positive for 4 MSSA samples (40%). The difference in the number of *ermC* gene region positive isolates between the methicillin-susceptible and resistant groups is statistically significant with 95% confidence ($p < 0.05$).

Table 1. Comparison of the MLSB phenotypes distribution according to methicillin resistance status

No (%)	iMLSB	cMLSB	MSB	ERY/CLI Susceptible	Total
MRSA	25 (75.8%)	2 (50%)	1 (100%)	22 (35.5%)	50 (50%)
MSSA	8 (24.2%)	2 (50%)	-	40 (64.5%)	50 (50%)
Total	33 (100%)	4 (100%)	1 (100%)	62 (100%)	100 (100%)

The second common gene was *ermA*; it was detected in 4 MSSA samples (40%) and was not detected in MRSA samples. The difference in the number of *ermA* gene region positive isolates between the methicillin susceptible and resistant groups is not statistically significant with 95% confidence ($p=0.117$). *ErmB* gene was not detected in any of the samples. In addition, *msrA* gene was confirmed in one MSB phenotype sample. The difference in the number of *msrA* gene region positive isolates between the methicillin-susceptible and resistant groups is not statistically significant with 95% confidence ($p=1.000$).

DISCUSSION

We studied a hundred samples of *S. aureus* isolates that were tested for susceptibility to erythromycin and clindamycin. Fifty of them were MRSA and the other 50 were MSSA and also confirmed in our study by using cefoxitin disc. In the 50 MRSA isolates, the inducible phenotype was detected in 25 isolates (50%), the constitutive phenotype in 2 isolates (4%), the MSB phenotype in 1 isolate (2%) and 22 isolates (44%) were susceptible to erythromycin and clindamycin without D zone. In 50 MSSA isolates tested 8 (16%) isolates showed iMLSB phenotype which is resistant to erythromycin with D zone positive. And 2 (4%) isolates are cMLSB that give resistance to both antibiotics with D zone negative. There are 40 (80%) isolates that are susceptible to clindamycin and erythromycin without D zone. In a recent study by Nahar et al. in 2023 iMLSB resistant MRSA isolates were detected more than iMLSB resistant MSSA (58.6%, 23.5%) respectively, these results are similar to our results (12). Mahesh et al. found out in 2022 that of 140 *S. aureus* isolates, 33.6% were MSSA and 66.4% were MRSA. iMLSB phenotype rate was 29.3%, and cMLSB phenotype rate was 26.4%. And only 8 (17%) iMLSB isolates were found in MSSA strains similar to our results (13). In the study of Assefa in 2022, 605 of 3064 *S. aureus* isolates were iMLSB resistant (19.8%) (14). iMLSB phenotypes in MRSA strains were highest in Egypt, Nigeria and Libya as 77.8%, 75.0%, 66.2%, respectively.

The lowest occurrence of the phenotypes iMLSB among MRSA isolates was reported in Cote d'Ivoire's study with 3.9%. The iMLSB phenotype was not detected in MSSA strains in 2007 in Libya and in 2017 in Cote d'Ivoire, cMLSB phenotypes was showed in MRSA and MSSA strains as 0-75% 0-60%, respectively (14).

In 2015, Ozansoy et al. from Turkey reported that 39.1% of *S. aureus* isolates were MRSA and 60.9% were MSSA. In MRSA samples cMLSB and iMLSB resistances were 7.6% and 56.3%, respectively. 1.3% of isolates were MS phenotype and 34% of isolates belonged to erythromycin/clindamycin susceptible phenotype. Among the MSSA samples iMLSB was 8.9% and cMLSB was 2.9%, MSB was 1.2% and erythromycin/clindamycin susceptibility was 87% (15). Özbek et al found in 2021 that cMLSB resistance (49%) was higher than iMLSB (19%) and MSB phenotype was not detected (16). In the study of Uyar Gulec et al. iMLSB resistance was determined in 25%, structural resistance in 42.9% and MSB phenotype resistance in 3.5% of MRSA strains in 2010. This rate was 15.3% structural resistance and 7.7% inducible resistance in MSSA. No resistance was observed in the MSB phenotype in MSSA strains (7).

There are differences between our study and Modukuru et al's study which reported that 165 *S. aureus* isolates were susceptible to erythromycin and clindamycin in a total of 339 isolates. Rest of them (174 isolates, 56.3% MRSA and 43.7% MSSA) had resistance to erythromycin or clindamycin, or both. Among MRSA strains, 76.6% were cMLSB, 64.5% were iMLSB, and 43.75% were MSB phenotype. Among 76 MSSA isolates; 23.40% was cMLSB, 35.48% iMLSB and 56.25% was MS phenotype. This study shows that iMLSB phenotype had higher rate in MRSA isolates comparing to MSSA isolates (17). In the study of Nagarkoti et al., 60 isolates were found as erythromycin-resistant in 312 Staphylococcal isolates comprising 65% *S. aureus* and 71% of them were representing MRSA, among them cMLSB, iMLSB, MS phenotypes were 12%, 44%, 44%, respectively. Among MSSA isolates cMLSB resistance was 35.7%, iMLSB 7.2% and MS 57.1% (18). There are differences between our results and Pereira et al's study in 2016

which reported that 22 (21.4%) MRSA and 37 (35.9%) MSSA were detected. It was detected that among MRSA isolates 22.7% of them belonged to erythromycin/clindamycin susceptible phenotype, 68.2% cMLSB, 4.5% iMLSB, 4.5% MSB phenotype. Among MSSA isolates erythromycin/clindamycin susceptible phenotype was 67.6%, cMLSB 10.8%, iMLSB 10.8%, MSB 4.5% (19). Abouelnour et al.'s study from Egypt obtained that in MRSA isolates iMLSB rate was 25.2%, cMLSB 30.8% and MS 4.7%. About MSSA results iMLSB phenotype was 18.7%, cMLSB 12.4%, MS 8.4% (20). In the study of Tandon et al. in 2018; among 604 isolates, 36.4% were MRSA and 11.4% of them were reported as iMLSB phenotype (21). Zeki et al. in 2015 reported that in a total of 63 *S. aureus* isolates 32 (50.8%) were MRSA and 31 (49.2%) were MSSA. They reported that among MSSA isolates, 29 strains had resistance to erythromycin and 18 strains had resistance to clindamycin and 10 strains had resistance to both erythromycin and clindamycin (22). Timsina et al. in 2020 showed that in 64 *S. aureus* isolates, 17 (26.6%) were MRSA and 15 (23.4%) of them have iMLSB resistance. iMLSB resistance were higher in MRSA isolates (76.4%) than MSSA isolates (4.2%) (23). Khodabandeh et al. in 2019, among 106 MRSA isolates the rate of cMLSB resistance was 56.2%, iMLSB resistance was 22.9%, and MSB resistance was 16.6% (24). Goudarzi et al. reported in 2020 that in MRSA and MSSA isolates, cMLSB phenotype was found (30.2%, 24.4%), however iMLSB and MS phenotypes were detected only in MRSA isolates (25). In the study of Antonio et al. between 1990 and 2019, 3544 MSSA and 819 MRSA isolates were detected in blood stream infections (26). Aetruigh et al. in 2022 reported that the distribution of isolates showing iMLSB phenotype was 19.4% for MRSA and 6.4% for MSSA isolates (27). The studies from literature show that according to the region iMLSB and cMLSB resistance rates are variable. In general, iMLSB resistance is higher than cMLSB resistance.

We studied the resistance genes in 28 samples of MRSA and 10 samples of MSSA isolates with MLSB phenotypic resistance from a total of 100 samples. In our study, it was found that the *ermC* gene is the most

common gene (89.3%) in MRSA isolates and positive for 2 iMLSB MSSA isolates and *ermC* gene was detected in 2 cMLSB MRSA isolates and 2 MSSA isolates. The second common gene was *ermA* because it was positive in 4 MSSA samples with iMLSB resistance. And *ermB* gene was negative for all isolates. The other detected gene was the *msrA* gene which was positive for one isolate in MRSA samples. The results of Nagarkoti et al. in 2019 agreed with our results due to in 39 *S. aureus* isolates, *ermC* gene was found as 36% which was the most common gene in the study and *ermB* gene was detected as 5%. However, the *ermA* gene was not detected. Also *msrA* and *msrB* genes were detected in 2.6% and 5.1% of *S. aureus* isolates (18). Pereira et al. reported in 2016 that among 44 *S. aureus* isolates with cMLSB and iMLSB phenotypes had 38.6% *ermC* gene and 9.1% had *ermA* gene (19). In the study of Assefa in 2022, the rate of *ermC* gene was 70% and the *ermA* gene was detected as 67.9% in Egypt, which is very different from our result. They also reported that another common gene was *msrA* in Egypt with 70% detection rate (14). Nahar et al. in 2023 found *ermC* gene 14.3% in MSSA and 11.5% in MRSA isolates. The *ermA* gene predominated in both MSSA (70.1%) and MRSA (86.9%) isolates, different from our study (12). This result found higher *ermC* rate in MSSA isolates. Mazloumi et al. in 2021 detected the *ermC* gene as the frequent gene in *S. aureus* isolates (43.5%) and *ermA* gene had the lowest frequency among MRSA and MSSA isolates and 7% of these strains were positive for the *msrA* gene. They detected the *ermB* gene as the most frequent gene among *S. aureus* (44.6%) isolates. In addition, *ermB* (57.1%) and *ermC* (53.1%) genes were found to have a high frequency in MRSA isolates (28). Abouelnour et al. obtained in 2020 that *ermA* (29%) and *ermC* (18.7%) were widespread genes carried by the isolates, however *ermB* (4.7%) was carried by a few isolates (20). Tandon et al. in 2018 found among inducible resistant isolates, 25 *ermC* (84%) isolates and *ermA* and *ermB* genes were not detected (21). Timsina et al. reported in 2020 that 15.6% were *ermA* positive, 3.1% were *ermB* and 18.7% were *ermC* positive (23).

Khodabandeh et al. reported in 2019 that 81.8%, 63.6% and 54.5% of 11 isolates with iMLSB phenotype, *ermC*, *ermB* and *ermA* genes were detected, respectively. The rates of *ermA*, *ermB*, *ermC*, *msrA* and *msrB* genes were 25.9%, 18.5%, 44.4%, 0.0% and 0.0%, respectively in cMLSB phenotype isolates (24). In the study of Goudarzi et al. in 2020, the results showed that the *ermC* gene was detected as 40.7%, *ermB* gene rate was 14% and *ermA* gene rate was 8.1% among all gene regions studied (25). In the study of Antonio et al. in 2019 MLSB resistance was detected in 35 isolates, related with genes *ermA* and *ermC* (26). Uyar Gulec et al. detected *ermA* as the most common gene in *S. aureus* isolates (7). Yildiz et al. in 2014 reported that in 225 erythromycin-resistant isolates, 48 had *ermA*, 20 had *ermC*, and among MRSA isolates 64 had erythromycin intermediate resistance. Of which these isolates, 36 were positive for *ermA*, so the most common resistance gene was *ermA* (29). In the study of Gulaydin

et al. in 2023, iMLSB, cMLSB, MS and erythromycin and clindamycin susceptible phenotypes were 10%, 0%, 6.66% and 83.33%, respectively. Also, the *ermC* gene with a positive D-zone was detected in one isolate (30). In the literature, *ermC* and *ermA* genes are the most common genes. Most of the studies found *ermC* gene higher than *ermA*, in some studies *ermA* gene is higher than *ermC*. The least common genes are *ermB* and *msr* genes. So our results are compatible with the literature.

To conclude, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains produce an important healthcare problem since they might have multi-drug resistance, and MLSB resistance is related with methicillin resistance. The transition of the *erm* genes between bacteria causes MLSB resistance and restricts the usage of macrolides. Therefore, phenotypic and genetic analysis to detect the frequency of resistance genes should be done for the epidemiological information.

ETHICS COMMITTEE APPROVAL

* This study was approved by Baskent University Institutional Review Board (Project no: KA22/361) and supported by Baskent University Research Fund.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Silva V, Hermenegildo S, Ferreira C, Manaia CM, Capita R, Alonso-Calleja C, et al. Genetic Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from Human Bloodstream Infections: Detection of MLSB Resistance. *Antibiotics (Basel)*, 2020; 9(7): 1-7.
2. Mikłasińska-Majdanik M. Mechanisms of Resistance to Macrolide Antibiotics among *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics (Basel)*, 2021; 10(11):1-23.
3. Gul HC, Kilic A, Guclu AU, Bedir O, Orhon M, Basustaoglu AC, et al. Macrolide-lincosamide-streptogramin B resistant phenotypes and genotypes for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Turkey, from 2003 to 2006. *Pol J Microbiol*, 2008; 57(4): 307-12.
4. Camp J, Glaubitz L, Filla T, Kaasch AJ, Fuchs F, Scarborough M, et al. Impact of Immunosuppressive Agents on Clinical Manifestations and Outcome of *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infection: A Propensity Score-Matched Analysis in 2 Large, Prospectively Evaluated Cohorts. *Clin Infect Dis*, 2021; 73(7): 1239-47.
5. Alalem AM. Antibiotics resistance staphylococcus aureus infection studies in hospital. ph.D Thesis, Middle East Technical University, Institute of Science, 2008.
6. Wang H, Zhuang H, Ji S, Sun L, Zhao F, Wu D, et al. Distribution of *erm* genes among MRSA isolates with resistance to clindamycin in a Chinese teaching hospital. *Infect Genet Evol*, 2021; 96: 1-5.

7. Güleş GU, Öncü SE, Bozdoğan B, Barcin O, Bulent E, Serhan S, et al. Phenotypic and Molecular Detection of Macrolide Lincosamide Streptogramin B Resistance in Clinical Isolates of Staphylococci. *Flora*, 2020; 25(2): 190-6.
8. Boyce JM, Cookson B, Christiansen K, Hori S, Vuopio-Varkila J, Kocagöz S, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Lancet Infect Dis*, 2005; 5(10): 653-63.
9. Guclu A, Guney M, Sig A. Arising Prevalence of OXA-48 producer *Escherichia coli* and OXA-48 with NDM co-producer *Klebsiella pneumoniae* Strains. *Revista Romana de Medicina de Laborator*, 2019; (27): 319-26.
10. Sutcliffe J, Grebe T, Tait-Kamradt A. Detection of Rhythromycin-Resistant Determinants by PCR. *Antimicrob. Agents Chemother*, 1996; 40: 2562-6.
11. Wondrack L, Massa M, Yang BV. Clinical strain of Staphylococcus aureus inactivates and causes efflux of macrolides. *Antimicrob. Agents Chemother*, 1996; 40: 992-8.
12. Nahar L, Hagiya H, Nada T. Prevalence of Inducible Macrolide Lincosamide, and Streptogramin B (inducible MLSB) Resistance in Clindamycin-Susceptible Staphylococcus aureus at Okayama University Hospital. *Acta medica Okayama*, 2023; 77(1): 1-9.
13. Mahesh S, Kalyan R, Gupta P. MecA and ermA Gene Discrepancy from Their Phenotypic Profile in Staphylococcus aureus Isolates. *J Microbiol Infect Dis*, 2022; 12(01): 6-11.
14. Assefa M. Inducible Clindamycin-Resistant Staphylococcus aureus Strains in Africa: A Systematic Review. *Int J Microbiol*, 2022: 1-9.
15. Ozansoy F, Cevahir N, Kaleli İ. Staphylococcus aureus suşlarında makrolid, linkozamid ve streptogramin B direncinin fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılması. *Mikrobiyol Bul*, 2015; 49(1): 1-14.
16. Özbek E, Temiz H, Özcan N. The Antibiotic Susceptibilities of Methicillin - Resistant Staphylococcus aureus Strains Isolated from Various Clinical Samples. *Med Sci Discov (Internet)*, 2021; 8(4): 266-70.
17. Modukuru GK, Surya PMS, Kakumanu VR. Phenotypic characterization of Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B resistance in Staphylococcus aureus. *J Pure Appl Microbiol*, 2021; 15(2): 689-94.
18. Nagarkoti D, Prajapati K, Sharma AN. Distribution of Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B antibiotics resistance genes in clinical isolates of Staphylococci. Preprint (Version 1) available at Research Square, 2019; 1: 1-15.
19. Pereira JN, Rabelo MA, Lima JL. Phenotypic and molecular characterization of resistance to macrolides, lincosamides, and type B streptogramin of clinical isolates of Staphylococcus spp. of a university hospital in Recife, Pernambuco, Brazil. *Braz J Infect Dis*, 2016; 20(3): 276-81.
20. Abouelnour A, Zaki ME, Hassan R. Phenotypic and genotypic identification of Staphylococcus aureus resistant to clindamycin in Mansoura University Children Hospital, Egypt. *Afr J Clin Exper Microbiol*, 2020; 21(1): 30-5.
21. Tandon M, Kulkarni M, GS S. Prevalence of inducible clindamycin resistance in clinical isolates of methicillin-resistance Staphylococcus aureus mediated through gene erm C Expression. *Asian J Pharm Clin Res*, 2018; 11(9): 106-9.
22. Zeki C, Murat K, Osman A. "Prevalence and Antimicrobial-Resistance of Staphylococcus aureus Isolated from Blood Culture in University Hospital, Turkey. *Glob J Infect Dis Clin Res*, 2015; 1(1): 10-3.
23. Timsina R, Shrestha U, Singh A. Inducible clindamycin resistance and erm genes in Staphylococcus aureus in school children in Kathmandu, Nepal. *Future Sci OA*, 2020; 7(1): 2020-92.
24. Khodabandeh M, Mahmoud M, Abdolsalehi MR. Analysis of resistance to macrolide-lincosamide-Streptogramin B among mecA-positive Staphylococcus aureus isolates. *Osong public health and research perspectives*, 2019; 10(1): 25-31.
25. Goudarzi M, Tayebi Z, Fazeli M. Molecular Characterization, Drug Resistance and Virulence Analysis of Constitutive and Inducible Clindamycin Resistance Staphylococcus aureus Strains Recovered from Clinical Samples, Tehran - Iran. *Infect Drug Resist*, 2020; 13: 1155-62.
26. Vázquez-Sánchez DA, Grillo S, Carrera-Salinas A. Molecular Epidemiology, Antimicrobial Susceptibility, and Clinical Features of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Bloodstream Infections over 30 Years in Barcelona, Spain (1990-2019). *Microorganisms*, 2022; 10(12): 2401.
27. Aetrough S, Aboshkiwa M, Tawil K. Inducible clindamycin resistance among Staphylococcal clinical isolates from Tripoli Central Hospital, Libya. *Libyan International Medical University Journal*, 2017; 2(20): 128-33.
28. Mazloumi MJ, Akbari R, Yousefi S. Detection of inducible clindamycin resistance genes (ermA, ermB, and ermC) in Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 2021; 49: 449-57.
29. Yıldız Ö, Çoban AY, Şener AG. Antimicrobial susceptibility and resistance mechanisms of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated from 12 Hospitals in Turkey. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2014; 13(44): 1-6.
30. Gulaydin O, Gurturk K, Ekin IH. Phenotypic and Genotypic Characterization of Macrolide-Lincosamide-Streptogramin Resistance in Staphylococcus aureus Isolates from Bovine and Human. *Acta Veterinaria*, 2023; 73(1): 102-18.

Investigation of the frequency of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in acute gastroenteritis cases admitted to a tertiary hospital in Türkiye and determination of the antibiotic susceptibility of isolated strains and various virulence factors

Türkiye’de üçüncü basamak bir hastaneye başvuran akut gastroenterit olgularında *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter coli* sıklığının araştırılması ve izole edilen şuşların antibiyotik duyarlılıkları ve çeşitli virülans faktörlerinin belirlenmesi

Yusuf GÖRGÜLÜ¹ (ID), Harun GÜLBUDAK² (ID), Leyla ERSOY³ (ID), Necdet KUYUCU⁴ (ID), Seda TEZCAN ÜLGER³ (ID), Ali KAYA⁵ (ID), Gönül ASLAN³ (ID)

ABSTRACT

Objective: Campylobacteriosis is one of the most common types of gastroenteritis worldwide. In recent years, it has been reported that *Campylobacter* species isolated from humans and animals have increased antibiotic resistance against macrolides and especially fluoroquinolones. This study aimed to determine the frequency of *Campylobacter* species in patients with acute gastroenteritis and to investigate the antibiotic susceptibility profile and various virulence factors in the isolated strains.

Methods: Stool samples from 401 patients at Mersin University Hospital were included in the study between October 2018 and April 2019. Antimicrobial susceptibility testing of *Campylobacter* species was performed by using the disk diffusion method according to the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

ÖZET

Amaç: Campylobacteriosis dünya çapında en sık görülen gastroenterit türlerinden biridir. Son yıllarda insanlardan ve hayvanlardan izole edilen *Campylobacter* türlerinin makrolidlere ve özellikle de florokinolonlara karşı antibiyotik direncini arttırdığı bildirilmektedir. Çalışmamızın amacı, akut gastroenteritli hastalarda *Campylobacter* türlerinin sıklığını belirlemek ve izole edilen örneklerin antibiyotik duyarlılık profilini ve çeşitli virülans faktörlerini araştırmaktır.

Yöntem: Çalışmaya Ekim 2018 ile Nisan 2019 tarihleri arasında Mersin Üniversite Hastanesi’ndeki 401 hastanın dışkı örnekleri dahil edildi. *Campylobacter* türlerinin antimikrobiyal duyarlılık testleri, EUCAST kılavuzuna göre disk difüzyon yöntemi ile yapıldı. *Campylobacter* türlerinin ve çeşitli virülans

¹Bandırma Onyedü Eylül University, Faculty of Medicine, Medical Microbiology Department, Balıkesir, Türkiye

²Mersin University, Faculty of Science, Biology Department, Mersin, Türkiye

³Mersin University, Faculty of Medicine, Medical Microbiology Department, Mersin, Türkiye

⁴Mersin University, Faculty of Medicine, Pediatrics Department, Mersin, Türkiye

⁵Mersin University, Faculty of Medicine, Infectious Diseases and Clinical Microbiology Department, Mersin, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Yusuf GÖRGÜLÜ

Bandırma Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Balıkesir - Türkiye

E-posta / E-mail : dr.yusufgorgulu@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 10.11.2023

Kabul Tarihi / Accepted : 18.04.2024

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2025.76329

Görgülü Y, Gülbudak H, Ersoy L, Kuyucu N, Tezcan Ülger S, Kaya A, Aslan G. Investigation of the frequency of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in acute gastroenteritis cases admitted to a tertiary hospital in Türkiye and determination of the antibiotic susceptibility of isolated strains and various virulence factors. Türk Hij Den Biyol Derg, 2025; 82(2): 239 - 248

(EUCAST) guidelines. Identification of *Campylobacter* species and various virulence factors were studied with conventional Polimeraz Chain Reaction(PCR).

Results: *Campylobacter* spp. was isolated in 44 (10.9%) of the 401 stool samples included in the study. The PCR method revealed that 36 isolates (81.8%) corresponded to *C. jejuni*, while six isolates (13.6%) were identified as *C. coli*. Two isolates could not be identified to the species level by the PCR method and were reported as *Campylobacter* spp. All 44 *Campylobacter* isolates were resistant to ciprofloxacin. Tetracycline resistance was found to be 97.7% (n=43) and erythromycin resistance was 9.1% (n=4) in the isolated *Campylobacter* strains. *cadF* and *cdtABC* positivity were detected in 90.9% (n=40) and 54.5% (n=24) of the *Campylobacter* isolates, respectively.

Conclusion: Our results have yielded valuable data on the epidemiology of *Campylobacter* in our geographical area, highlighting the importance of including *Campylobacter* culture as a standard component of routine stool culture tests. Macrolide antibiotics have been reaffirmed as the primary treatment option for *Campylobacter* species. Furthermore, it was suggested that rational antibiotic usage and preventive measures against antibiotic resistance should be implemented.

Key Words: *Campylobacter*, gastroenteritis, PCR, antibiotic, virulence

faktörlerinin tanımlanması konvansiyonel Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile çalışıldı.

Bulgular: Çalışmaya alınan 401 dışkı örneğinin 44'ünde (%10.9) *Campylobacter* spp. izole edildi. PCR yöntemiyle 36 izolat (%81.8) *C. jejuni*, 6 izolat(%13.6) ise *C. coli* olarak tanımlandı. 2 izolat ise PCR yöntemiyle tür düzeyinde tanımlanması yapılamamış olup *Campylobacter* spp. olarak raporlandı. 44 *Campylobacter* izolatının tamamı siprofloksasine dirençliydi. İzole edilen *Campylobacter* suşlarında tetrasiklin direnci %97.7 (n=43), eritromisin direnci ise %9.1 (n=4) olarak belirlendi. *Campylobacter* izolatlarının sırasıyla %90.9'unda (n=40) ve %54.5'inde (n=24) *cadF* ve *cdtABC* pozitifliği tespit edildi.

Sonuç: Sonuç olarak çalışmamız bölgemizdeki *Campylobacter* epidemiyolojisi hakkında veriler sunmuş ve *Campylobacter* kültürünün rutin dışkı kültürü testlerinin standart bir bileşeni olarak dahil edilmesinin önemini vurgulamıştır. *Campylobacter* türlerinde makrolid grubu antibiyotiklerin birincil tedavi seçeneği olduğu yeniden ortaya konmuştur. Ayrıca akılcı antibiyotik kullanımı ve antibiyotik direncine karşı önleyici tedbirlerin uygulanması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Campylobacter*, Gastroenterit, PCR, Antibiyotik, Virülans

INTRODUCTION

Campylobacter spp. is a zoonotic pathogen that is found commensally in cattle, sheep and especially avian species. When it infects humans, it frequently leads to acute gastroenteritis (1). Foodborne *Campylobacter* infections are a major public health problem in many European countries and worldwide (1-3). Although there are 17 species and 6 subspecies of the genus *Campylobacter*, the most frequently

reported species as causative agents in humans are *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* (4).

Campylobacteriosis is a self-limiting disease that typically requires only hydration as treatment. However, antibiotic treatment is required in severe or prolonged infections and in immunocompromised patients (5). In recent years, it has been reported that *Campylobacter* species isolated from humans and animals have increased antibiotic resistance (6-8).

Campylobacter species exhibit distinct virulence and survival attributes, including motility, chemotaxis, adhesion, invasion, toxin production(9). Multiple gene regions associated with these virulence factors have been identified. Some of those; the *cadF* gene, which encodes the fibronectin-binding outer membrane protein that plays a role in bacterial adhesion, the *iam* gene, which is an invasion-related marker, and the *cdtA*, *cdtB* and *cdtC* genes, which encode the production of three subunit cytolethal toxin(9) .

This study aimed to determine the isolation frequency of *Campylobacter* species in stool samples obtained from patients admitted to Mersin University Hospital with a preliminary diagnosis of acute gastroenteritis and to investigate antibiotic susceptibility profiles and virulence factors in isolated samples.

MATERIAL and METHOD

Study design

In this study, we examined stool samples from 401 patients who were followed up in various outpatient clinics and wards of Mersin University Hospital between October 2018 and April 2019 and whose anamnesis and clinical findings were compatible with diarrhea caused by *Campylobacter* spp. Stool samples from the same patient were excluded. The stool samples which the erythrocytes and leukocytes were detected in their microscopic examination, were inoculated into the modified charcoal cefoperazone deoxycholate agar (mCCDA, Oxoid, England) medium. In cases where it was not feasible to process the samples within a 2-hour window, they were instead placed in Cary Blair transport medium and stored at a temperature of +4°C for a maximum duration of 24 hours.

Isolation of *Campylobacter* species from stool samples

Stool samples were inoculated directly or from Cary Blair transport medium onto mCCDA medium. The medium plates were then placed in a 2.5-L

jar with Campy-Gen (Oxoid, UK) gas packs (5% O₂, 10% CO₂ and 85% N₂) to provide a microaerophilic environment and incubated at 42°C for 48-72 hours. Colonies displaying a smooth, rounded surface and a gray color on the selective medium, which raised suspicions of *Campylobacter* presence, underwent Gram staining as well as catalase and oxidase tests for confirmation (10). Following the antibiotic susceptibility tests conducted on isolates that were phenotypically identified as *Campylobacter* spp., according to the criteria described in the literature (positive in catalase and oxidase tests; gram negative; and a characteristic gull-wing, curled, or S-shaped appearance in Gram staining), these isolates were transferred into a 10% glycerol broth (Sigma, USA) and stored at a temperature of -20°C for subsequent molecular testing.

Antibiotic susceptibility test

Susceptibility testing of isolates against erythromycin 15 µg, tetracycline 30 µg, and ciprofloxacin 5 µg (Oxoid, UK) antibiotics was performed using the disk diffusion method according to the EUCAST guidelines (11). Accordingly, the bacterial suspension of *Campylobacter* spp. Isolates prepared at a density equivalent to 0.5 McFarland turbidity standard, was inoculated on the surface of Mueller Hinton Fastidious agar medium (BD, Germany) containing 20 mg/L B-NAD, and 5% horse blood and antibiotic disks were placed. And they were incubated in a microaerophilic environment at 42°C for 24 hours, and inhibition zones were evaluated according to EUCAST guidelines (11).

Molecular tests

The rapid DNA extraction method was used for DNA isolation (12). For this purpose, a loopful of bacteria from *Campylobacter* colonies growing on selective medium was suspended in 1 ml of sterile distilled water and kept at 80°C for 20 minutes for the cell lysis. It was then centrifuged at 12,000 xg for 10 minutes, and the supernatant was discarded. The mixture obtained by adding 200 µl of chloroform

and 200 µl of sterile distilled water to the pellet was centrifuged again at 12,000 xg for 10 minutes, and the upper liquid was used as a template for the PCR reaction.

In the identification of *Campylobacter* species using the PCR method, we followed the procedure outlined in the literature (13, 14); primers targeting the *mapA* and *glyA* gene regions were employed for the identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*, respectively. Furthermore, virulence factors were examined using the PCR technique, following the procedures outlined in the literature. This included the utilization of primers designed to target the *cadF* gene region and the *cdtABC* gene region (Table 1) (15).

Each sample underwent amplification within a reaction volume of 50 µl. The reaction mixture consisted of 5 µl of 10× PCR buffer (Promega, USA), 1.5 µmol/µl of MgCl₂ (Promega, USA), 0.2 µmol/µl of dNTP mix (Sigma, USA), 0.25 pmol/µl of each primer, 2.5 U of Taq DNA polymerase, and 5 µl of sample DNA. The amplification conditions of the samples included initial denaturation at 95°C for 10 minutes, followed by 35 cycles of denaturation at 95°C for 45 seconds, binding for 1 minute at the temperatures specified for each gene region in Table 1, elongation at 72°C for 1 minute, and a final elongation step at 72°C for 7 minutes. PCR products were visualized under ultraviolet light after 1% agarose gel electrophoresis

containing 0.5 µg/ml of ethidium bromide.

Statistical analysis

STATISTICA version 13.5.0.17 was used for statistical analysis of the data. We employed a chi-square independence test to assess whether the distribution of reproduction was consistent among different categories of categorical variables, including sex, age, ward, and microscopic examination. The statistical significance level was considered $p < 0.05$.

The study was approved by the Mersin University Clinical Research Ethics Committee (Date: 27.04.2018 and Number: 2018/195) and supported by the Mersin University Scientific Research Projects Unit as a project coded (2018-2-TP3-2930).

RESULTS

Of the 401 patients included in the study, 230 (57.3%) were male and 171 (42.7%) were female. The age of the patients ranged from 0 to 95 years, and the analysis was categorized by age groups as follows: stool samples from 123 (30.6%) patients were in the <5-year-old group, 138 (34.4%) patients in the 5-18-year-old group, and 140 (35%) patients in the 18-95-year-old group.

Campylobacter spp. were isolated in 44 (10.9%) of 401 stool samples. Using the PCR method, 36 (81.8%) of the isolates were identified as *C. jejuni* and 6 (13.6%) as *C. coli*. Two strains initially identified as

Table 1. Primer sequences used in the study and expected amplicon sizes

Gene region	Primer sequence	Target amplicon (bp)	Binding temperature (°C)	Source
<i>glyA</i> (<i>C. coli</i>)	F-5'-GTAAACCAAAGCTTATCGTG-3' R-5'-TCCAGCAATGTGTGCAATG-3'	126	55	[14]
<i>mapA</i> (<i>C. jejuni</i>)	F-5'-CTATTTTTTTTTTGAGTGCTTGCTTG-3' R-5'-GCTTTATTTGCCATTGTTTATTA-3'	589	55	[13]
<i>cadF</i>	F-5'-TTGAAGGTAATTAGATATATG-3' R-5'-CTAATACCTAAAGTTGAAAC-3'	400	45	[15]
<i>cdtABC</i>	F-5'-GGAAATTGGATTGGGGCTATACT-3' R-5'-TTGCACATAACCAAAGGAAG-3'	1215	55	[15]

Campylobacter spp. using conventional techniques could not be specified as per the species level via the PCR method. Gel images of the *glyA* and *mapA*

genes for the identification of *Campylobacter* species are displayed in Figures 1 and 2.

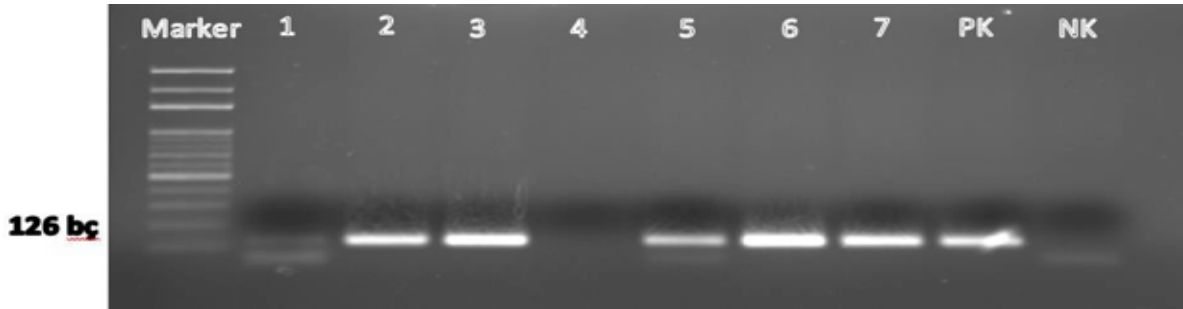


Figure 1. 1% agarose gel electrophoresis image of PCR amplification products at ~126 bp of the *glyA* region. Column Marker; molecular weight standard (GeneRuler 100 bc DNA ladder, #SM0241, Thermo Fisher Scientific), columns 1 and 4; negative sample, columns 2, 3, 5-7; positive sample, PK; *C. coli* ATCC 33559 as a positive control, NK; distilled water as a negative control

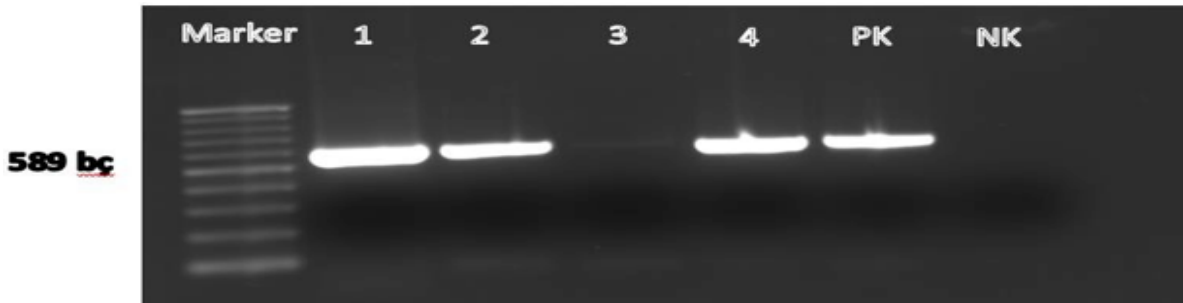


Figure 2. 1% agarose gel electrophoresis image of PCR amplification products at ~589 bp of the *mapA* gene region. Column Marker; molecular weight standard (GeneRuler 100 bc DNA ladder, #SM0241, Thermo Fisher Scientific), columns 1, 2, and 4; positive sample, column 3; negative sample, PK; *C. jejuni* ATCC 33560 as a positive control, NK; distilled water as a negative control

Of the 44 patients from whom *Campylobacter* spp. were isolated, 28 (63.6%) were male and 16 (36.4%) were female. There was no statistically significant difference in *Campylobacter* positivity between genders ($p = 0.097$). The age of positive patients ranged from 6 months to 62 years. When categorizing positive patients by age groups, 29.6% ($n = 13$) in the <5-year-old group, 56.8% ($n = 25$) in the 5-18-year-old group, and 13.6% ($n = 6$) in the

≥18-year-old group were positive for *Campylobacter* spp. *Campylobacter* spp. positivity was found to be statistically higher in the 5-18-year-old group compared to other age groups ($p = 0.0018$).

Upon analyzing the distribution of *Campylobacter* spp. isolation based on clinical units, it was observed that the rate of positivity in samples from the pediatric emergency clinic (68.2%; $n = 30$) was greater than in the other units (31.8%; $n = 14$) ($p = 0.0237$).

Antibiotic susceptibilities of 44 *Campylobacter* isolates were tested by the disk diffusion method, and all 44 (100%) isolates were resistant to ciprofloxacin. Tetracycline resistance was detected in 43 (97.7%) isolates, while erythromycin resistance was observed in 4 (9.1%) isolates (Table 2).

When the *cadF* and *cdtABC* gene regions encoding *Campylobacter* virulence factors were analyzed by PCR, *cadF* was found positive in 40 (90.9%) and *cdtABC* was found positive in 24 (54.5%) of 44 *Campylobacter* isolates (Table 3).

Table 2. Antibiotic Susceptibility Results of *Campylobacter* Isolates

<i>Campylobacter</i> species	Ciprofloxacin	Tetracycline	Erythromycin
	Resistant n (%)	Resistant n (%)	Resistant n (%)
<i>C. jejuni</i> (n = 36)	36 (100)	35 (97)	1 (2,8)
<i>C. coli</i> (n = 6)	6 (100)	6 (100)	3 (50)
<i>Campylobacter</i> spp. (n = 2)	2 (100)	2 (100)	0 (0)
Total (n = 44)	44 (100)	43 (97,7)	4 (9,1)

Table 3. Distribution of *cadF* and *cdtABC* virulence genes of *Campylobacter* isolates

<i>Campylobacter</i> species	<i>cadF</i> n (%)	<i>cdtABC</i> n (%)
<i>C. jejuni</i> (n = 36)	34 (94,4)	24 (66,6)
<i>C. coli</i> (n = 6)	6 (100)	0 (0)
<i>Campylobacter</i> spp. (n = 2)	0 (0)	0 (0)
Total (n = 44)	40 (90,9)	24 (54,5)

DISCUSSION

Among the factors that cause ~550 million foodborne infectious diseases annually worldwide, *Campylobacter* species have been reported as the second most common agent after Norovirus (16). According to the European Food Safety Authority report, the most frequently reported causative agent in the European Union (EU) in 2019 was *Campylobacter* species, with 220,682 cases (2). Campylobacteriosis was isolated at a rate of 1%-13% in Türkiye (17). According to the 2012 data from the National Enteric Pathogens Laboratory Network (UEPLA) in

Türkiye, confirmed cases of enteric pathogens, *Campylobacter* species accounted for ranking second in prevalence after *Salmonella* serotypes (18).

In countries such as the United Kingdom and the United States, ~90% of *Campylobacter* species isolated from gastroenteritis cases are *C. jejuni*, while *C. coli* is responsible for the majority of the remaining ~10% of cases (19). Of the 44 *Campylobacter* isolates in our study, 36 (81.8%) were *C. jejuni*, 6 (13.6%) were *C. coli*, and 2 (4.6%) were *Campylobacter* spp. (other than *C. jejuni* and *C. coli*). The distribution rates of *Campylobacter* species distribution rates in our study are similar to other data worldwide.

Although campylobacteriosis is a disease that affects all age groups, it is estimated that more than half of all *Campylobacter* cases occur in children >5 years of age globally (3). In large-scale studies conducted in Germany, England and Wales, it was reported that the age distribution of *Campylobacter* cases varied geographically. In a study conducted in the United Kingdom, *Campylobacter* cases were more common in men, whereas in a study conducted in Germany, young adult women were more likely to be affected by *Campylobacter* infections (20,21). In our study, although *Campylobacter* infection was detected at a higher rate in the male gender, no statistical difference was found between genders ($p = 0.097$). Examining the age distribution of the 44 cases in our study, we observed the highest positivity rate (56.8%) in individuals aged 5-18 years ($p = 0.0018$). In our study, the higher prevalence of *Campylobacter* cases under the age of 18 years is similar in the literature (3,22).

Campylobacteriosis cases are mostly self-limiting without a need for antibiotic treatment, but antibiotic treatment is required in severe or prolonged infections and in immunocompromised patients (5). Although the resistance rate to macrolide antibiotics, which are the preferred antibiotics for treatment, remains relatively low and consistent, strains isolated from both humans and animals have exhibited a notably high resistance rate to fluoroquinolones and tetracycline antibiotics (7,8,18,23). In a study conducted by Akan et al. (24) in 1994 in Türkiye, one (0.8%) quinolone and one (0.8%) macrolide resistant strains were detected in 119 *Campylobacter* isolates, all of which were tetracycline-sensitive. In 2011, a study conducted by Kayman et al. (25) found that among 127 *Campylobacter* isolates, 73.9% exhibited resistance to ciprofloxacin, 24% to tetracycline, and 6.3% to erythromycin. Based on the 2015 data from UEPLA, our country had recorded resistance rates of 86.5% to ciprofloxacin, 66.7% to tetracycline, and 7.2% to erythromycin (18). In our study, all *Campylobacter* isolates were resistant to ciprofloxacin, 97.7% to tetracycline. Accordingly, ciprofloxacin and

tetracycline resistance in *Campylobacter* isolates in Türkiye have increased over the years. We observed significantly elevated rates of ciprofloxacin and tetracycline resistance. While the limited number of isolates in our study might suggest elevated resistance rates, the prevalence of resistant infections could be attributed to the transmission of resistant strains from poultry to humans (8,23). In a study where resistance rates to ciprofloxacin, tetracycline, and erythromycin among *Campylobacter* isolates from humans and chickens ranged from 81%-93%, 38%-56%, and 6%-7%, respectively, the clonal analysis using Pulsed field gel electrophoresis (PFGE) further confirms this perspective by revealing a close genetic relationship between human and chicken isolates (8).

Infections caused by *Campylobacter* species can have diverse clinical symptoms. In addition to the host response, the pathogenicity of the agent also significantly contributes to clinical variability. Genes associated with pathogenicity in *Campylobacter* species are *flaA*, *cadF*, *virB11*, *ciaB*, *cdtABC* (cytolethal expanding toxin A, B, and C), and *cgtB* (26). In our study, among *Campylobacter* virulence factors, *cadF*-encoding adhesion protein was found to be positive in 90.9% ($n = 40$) and *cdtABC*-encoding cytolethal toxin production was found to be positive in 54.5% ($n = 24$). In a study conducted with clinical *C. jejuni* isolates, *cadF* was found to be 100% positive and *cdtA*, *cdtB*, and *cdtC* were found to be positive at a rate of 97.5% each (27). While all *C. jejuni* isolates isolated from slaughterhouse samples were positive for *cdtA*, *cdtB*, and *cdtC*, one sample was found to be negative for *cdtC* (28). In a study by Iglesias-Torrens et al. (23), all human and chicken *C. jejuni* isolates were positive for *cdtA*, *cdtB*, and *cdtC*, while at least one subunit of *cdt* genes was found negative in 46% of avian bird isolates. *cadF* was positive in all chicken and wild avian isolates, while 10% of human isolates were negative. *cadF* was found to be positive in all *C. jejuni* and *C. coli* isolates of human and chicken origin in a study by Wysok et al. (29). *cdtABC* has been reported in 89.8% and 40% of human *C. jejuni* and

C. coli, respectively, compared to 100% and 33.3% of chicken *C. jejuni* and *C. coli*, respectively. In our study, the presence of the *cadF* gene was detected at a range of 94.4%-100%, while the *cdtABC* gene group was identified at a range of 66.6%-0% in *C. jejuni* and *C. coli* isolates, respectively (Table 3). In a study with 58.4% *cdtABC* positivity, although the *cdt* subunit genes were independently positive in 15 samples, the *cdtABC* group PCR test was found to be negative (15), which is consistent with our study. This variability may be due to the primers and PCR techniques employed, as well as the genetic and epidemiological traits of the bacteria (19). In our study and in our country, a high rate of virulence factor-related genes was detected in human and animal isolates. Additional data is required to clarify the relationship between these genes found in human

and animal isolates and their association with disease patterns. Further studies on the relationship between virulence factors and patient clinics are needed.

In conclusion; *Campylobacter* cases were detected in 10.9% of patients with acute gastroenteritis in our hospital. Our findings provide important data on the epidemiology of *Campylobacter* in our region and are particularly significant in highlighting the increasing resistance rates of *Campylobacter* isolates, especially against ciprofloxacin and tetracycline. These results suggest that campylobacteriosis should be considered in patients presenting with symptoms of acute gastroenteritis, and that routine stool culture tests should include *Campylobacter* culture. Based on our study, macrolide antibiotics remain the first-line treatment option.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Enago - <https://www.enago.com.tr/ceviri/> for their assistance in manuscript translation and editing.

The authors thank to Mersin University Scientific Research Projects Unitas.

ETHICS COMMITTEE APPROVAL

* The study was approved by the Mersin University Clinical Research Ethics Committee (Date: 27.04.2018 and Number: 2018/195).

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Silva J, Leite D, Fernandes M, Mena C, Gibbs PA, Teixeira P. *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: a review. *Front Microbiol*, 2011;2:200.
2. EFSA and European Center for Disease Prevention and Control (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control). The European Union one health 2019 zoonoses report. *EFSA Journal*, 2021;19(2):6406.
3. Kirk MD, Pires SM, Black RE, Caipo M, Crump JA, Devleeschauwer B, et al. World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 22 foodborne bacterial, protozoal, and viral diseases, 2010: a data synthesis. *PLOS Med*, 2015;12:e1001921.
4. World Health Organization, World Health Organization. Erişim adresi. *Campylobacter*, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/campylobacter>; 2020 [accessed 7 August 2023]
5. Lübbert C. Antimicrobial therapy of acute diarrhoea: a clinical review. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2016;14:193-206.
6. Yang Y, Feye KM, Shi Z, Pavlidis HO, Kogut M, Ashworth JA, et al. A historical review on antibiotic resistance of foodborne campylobacter. *Front Microbiol*, 2019;10:1509.
7. Centers for Disease Control and Prevention (U.S.). *Campylobacter* (Campylobacteriosis): antibiotic resistance, <https://www.cdc.gov/campylobacter/campy-antibiotic-resistance.html>; 2002. [accessed 15 September 2023].
8. Abay S, Kayman T, Otlı B, Hizlisoy H, Aydın F, Ertas N. Genetic diversity and antibiotic resistance profiles of *Campylobacter jejuni* isolates from poultry and humans in Turkey. *Int J Food Microbiol*, 2014;178:29-38.
9. Bolton DJ. *Campylobacter* virulence and survival factors. *Food Microbiol*, 2015;48:99-108.
10. Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM. *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. MA: Jones and Bartlett Learning; 2020.
11. Testing EC on AS. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, Version 8.1, valid from 2018-05-15 [Internet]. Basel, Switzerland: EUCAST; 2020.
12. Aslan G, Tezcan S, Delialioğlu N, Aydın FE, Kuyucu N, Emekdaş G. Evaluation of penicillin-binding protein genotypes in penicillin susceptible and resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates. *Mikrobiyol Bul*, 2012;46:190-201.
13. Khoshbakht R, Tabatabaei M, Hosseinzadeh S, Shirzad Aski HS, Seifi S. Genetic characterization of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolated from broilers using *flaA* PCR-restriction fragment length polymorphism method in Shiraz, southern Iran. *Jundishapur J Microbiol*, 2015;8.
14. Wang G, Clark CG, Taylor TM, Pucknell C, Barton C, Price L, et al. Colony multiplex PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subsp. *fetus*. *J Clin Microbiol*, 2002;40:4744-7.
15. Lluque A, Riveros M, Prada A, Ochoa TJ, Ruiz J. Virulence and antimicrobial resistance in *Campylobacter* spp. from a Peruvian pediatric cohort. *Scientifica*, 2017;2017:7848926.
16. Havelaar AH, Kirk MD, Torgerson PR, Gibb HJ, Hald T, Lake RJ, et al. World Health Organization global estimates and regional comparisons of the burden of foodborne disease in 2010. *PLOS Med*, 2015;12:e1001923.
17. Öngen B. Causative Agenst of Diarrhea in Turkey. *Ankem Derg*, 2006;20:122-34.
18. Gülmez D, Gür D, Hascelik G, Güleşen R, Levent B. Experiences of a University Hospital Participating in the National Enteric Pathogens Surveillance Network (UEPLA): Four- year data of *Salmonella*, *Shigella* and *Campylobacter*. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 42(3):85-92, 2012.

19. Sheppard SK, Maiden MC. The evolution of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2015;7:a018119.
20. Schielke A, Rosner BM, Stark K. Epidemiology of campylobacteriosis in Germany - insights from 10 years of surveillance. *BMC Infect Dis*, 2014;14:30.
21. Nichols GL, Richardson JF, Sheppard SK, Lane C, Sarran C. *Campylobacter* epidemiology: a descriptive study reviewing 1 million cases in England and Wales between 1989 and 2011. *BMJ Open*, 2012;2:e001179.
22. Same GR, Tamma DP. *Campylobacter* Infections in Children. *Pediatr Rev*, 2018 Nov; 39(11): 533-41.
23. Iglesias-Torrens Y, Miró E, Guirado P, Llovet T, Muñoz C, Cerdà-Cuellar M, et al. Population structure, antimicrobial resistance, and virulence-associated genes in *Campylobacter jejuni* isolated from three ecological niches: gastroenteritis patients, broilers, and wild birds. *Front Microbiol*, 2018;9:1676.
24. Akan Ö, Haşcelik G, Akyön Y, Yurdakök K. In vitro susceptibility of *Campylobacter* species to several antibiotics. *Mikrobiyol Bul*, 1994;28:122-6.
25. Kayman T, Abay S, Hızlısoy H. Identification of *Campylobacter* spp. isolates with phenotypic methods and multiplex polymerase chain reaction and their antibiotic susceptibilities. *Mikrobiyol Bul*, 2013;47:230-9.
26. Datta S, Niwa H, Itoh K. Prevalence of 11 pathogenic genes of *Campylobacter jejuni* by PCR in strains isolated from humans, poultry meat and broiler and bovine faeces. *J Med Microbiol*, 2003;52:345-8.
27. Talukder KA, Aslam M, Islam Z, Azmi IJ, Dutta DK, Hossain S, et al. Prevalence of virulence genes and cytolethal distending toxin production in *Campylobacter jejuni* isolates from diarrheal patients in Bangladesh. *J Clin Microbiol*, 2008;46:1485-8.
28. Hızlısoy H, Al S, Ertaş Onmaz N, Yıldırım Y, Gönülalan Z, Barel M, et al. Virulence genes, antibiotic susceptibility profiles and molecular characterization of *Campylobacter* species isolated from different slaughterhouses. *Mikrobiyol Bul*, 2020;54:11-25.
29. Wysok B, Wojtacka J, Kivistö R. Pathogenicity of *Campylobacter* strains of poultry and human origin from Poland. *Int J Food Microbiol*, 2020;334:108830.

Kütahya'daki 2009-2020 yılları arasında görülen kırım-kongo kanamalı ateşi olgularının değerlendirilmesi

Evaluation of crimean-congo hemorrhagic fever cases seen in Kütahya between 2009-2020

Duru MISTANOĞLU ÖZATAĞ¹ (ID), Pınar KORKMAZ¹ (ID)

ÖZET

Amaç: Kütahya ili'nde ilk laboratuvar sonuçlarıyla doğrulanmış Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) olgusu 2006 yılında saptanmıştır. Bu çalışmayla 1 Ocak 2009 tarihinden itibaren KKKA tanısıyla takip edilen hastaların epidemiyolojik, klinik ve laboratuvar özelliklerinin retrospektif olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: 1 Ocak 2009 - 31 Aralık 2020 tarihleri arasında Ters Transkriptaz-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ve ELISA ile KKKA tanısı doğrulanan hastalara ait kayıtlar retrospektif olarak incelendi.

Bulgular: Çalışmaya toplam 28 hasta dahil edildi. Hastaların 28 (%64)'i kadın olup, yaş ortalaması 48,1±14,3 idi. Hastaların 23 (%82)'ü kırsal bölgede yaşamaktaydı, %93'ü çiftçilik ve hayvancılıkla uğraşmaktaydı. Başvuruların hepsi ilkbahar ve yaz aylarında olduğu görüldü. Hastalarda kene çıkarma sonrası şikayetlerin başlama süresi ortalama 6,0±1,8 gün, şikayetler başladıktan sonra hastaneye başvuru

ABSTRACT

Objective: The first case of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) confirmed by laboratory results was detected in Kütahya province in 2006. This study aimed to retrospectively examine the epidemiological, clinical and laboratory characteristics of patients who were followed up with the diagnosis of CCHF since January 1, 2009.

Methods: Records of patients whose diagnosis of CCHF was confirmed by Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) and ELISA between January 1, 2009 and December 31, 2020 were examined retrospectively.

Results: A total of 28 patients were included in the study. 28 (64%) of the patients were women and the average age was 48,1±14,3 years. 23 of the patients (82%) lived in rural areas, and 93% were engaged in farming and animal husbandry. All applications appeared to be in the spring and summer months. The average time to onset of complaints after tick removal was 6,0±1,8 days, and the time to hospital admission after the onset of complaints

¹Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Enfeksiyon Hastalıkları AD., Kütahya, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Pınar KORKMAZ

Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi EAH, İstiklal Cad. Okmeydanı, Kütahya - Türkiye

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

Geliş Tarihi / Received : 12.05.2023

Kabul Tarihi / Accepted : 05.06.2024

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2025.14306

Mistanoğlu Özatağ D, Korkmaz P. Kütahya'daki 2009-2020 yılları arasında görülen kırım-kongo kanamalı ateşi olgularının değerlendirilmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2025; 82(2): 249 - 256

süresi $3,1\pm1,64$ gündü. En sık görülen şikayet %96,4 ile ateş ve halsizlikti. Hastaların %82'sinde hayvanlarla temas öyküsü saptanmış, %86,0'ında ise kene tutunmasına ilişkin öykü tespit edilmiştir. Fizik muayenede hastaların %96,4'ünde ateş, %14,3'ünde diş eti kanaması, %17,9'unda hematüri mevcuttu. Hastaların tümünde AST-ALT yüksekliği ve trombositopeni, %93,0'ünde ise lökopeni saptandı. Hastaların %93,0'ünde LDH, %75,0'ünde CK yüksekliği saptandı, %35,7'sinde ise anemi mevcuttu. Hastaların %28,6'sına ribavirin tedavisi başlandığı, bir hastada (%3,6) ölüm gerçekleştiği görüldü.

Sonuç: KKKA ülkemizde önemini koruyan endemik bir hastalıktır ve hemen her bölgesinden bildirilmektedir. Bizim bölgemizde de mevsimsel özellik göstermekte ve sporadik olarak görülmektedir. İlkbahar ve yaz aylarında kırsal kesimde yaşayan veya kırsal bölgeye seyahat öyküsü olan ateş ve halsizlik şikayeti ile başvuran lökopeni, trombositopeni saptanan hastalarda KKKA ayırıcı tanıda mutlaka düşünülmelidir.

Anahtar Kelimeler: Kırım Kongo Kanamalı Ateşi, ateş, trombositopeni

was $3,1\pm1,64$ days. The most common complaints were fever and fatigue with 96,4%. 82% of the patients had a history of contact with animals, and the rate of patients reporting a history of tick bite was 86,0%. On physical examination, 96,4% of the patients had fever, 14,3% had gum bleeding, and 17,9% had hematuria. Elevated AST-ALT and thrombocytopenia were detected in all patients, and leukopenia was detected in 93,0%. LDH elevation was detected in 93,0% of the patients, CK elevation was detected in 75,0%, and anemia was present in 35,7%. It was observed that ribavirin treatment was started in 28,6% of the patients, and death occurred in one patient (3,6%).

Conclusion: CCHF is an endemic disease that maintains its importance in our country and is reported from almost every region. In our region, it also shows seasonal characteristics and is seen sporadically. CCHF should be considered in the differential diagnosis in patients with leukopenia and thrombocytopenia who live in rural areas or have a history of traveling to rural areas in spring and summer and present with complaints of fever and fatigue.

Key Words: Crimean-Congo Hemorrhagic Fever, fever, thrombocytopenia

GİRİŞ

Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA), keneler tarafından bulaşan, ateş ve kanama ile karakterize zoonotik bir hastalıktır (1). İlk olarak 1944 yılında Kırım'da Sovyet askerlerinde tanımlanmış ve Kırım ateşi olarak adlandırılmıştır. 1956 yılında Kongo'da benzer semptomlara sahip bir çocukta virüs izole edilmiş ve Kongo virüsü olarak adlandırılmıştır. Her iki hastalığa da neden olan ajanın, daha sonra KKKA virüsü olarak adlandırılan aynı virüs olduğu gösterilmiştir. Hastalığın ana vektörü *Hyalomma* cinsi kenelerdir ve birincil bulaşma yolu kene ısırığıdır (2). KKKA virüsü öncelikle *Ixodes* familyasından *Hyalomma*

cinsi keneler, özellikle *Hyalomma marginatum* yoluyla bulaşır (3). En yaygın rezervuarlar, yetişkin keneler tarafından enfekte edilen evcil hayvanlardır (koyun, keçi, sığır ve domuz). KKKA, keneler, enfekte hayvanların kan veya diğer vücut sıvıları ile doğrudan temas, nozokomiyal bulaşma ve dikey bulaşma yoluyla bulaşır. Klinik belirtiler, subklinik hastalıktan, kanama ve çoklu organ yetmezliği ile akut enfeksiyona kadar değişir (4,5). KKKA'nın klinik belirtileri arasında ani başlayan ateş, baş ağrısı, halsizlik, miyalji, boğaz ağrısı, baş dönmesi, konjunktivit, fotofobi, karın ağrısı, bulantı ve kusma görülebilir (2,4,6) Ölüm oranı ülkeler arasında değişmekle birlikte, endemik ülkelerde yaklaşık % 4 ile 20'dir (7-12).

KKKA salgınlarının olası nedenleri arasında değişen tarımsal uygulamalar, iklim değişikliği, evcil hayvanların hareketi, göçmen kuşlar, artan duyarlı hayvan sayısı ve artan kene popülasyonları sayılabilir (2). Hastalık ülkemizde ilk olarak 2002 yılında görülmüştür. KKKA, ülkemizde her yıl ilkbahar ve yaz aylarında ortaya çıkan endemik bir zoonozdur ve bildirimi zorunlu bir hastalıktır. 2002 ile 2018 yılları arasında Türkiye’de Sağlık Bakanlığı’na 11041 vaka bildirilmiştir, ölüm oranı % 4-5’tir (13). Kütahya ilinde ilk laboratuvar sonuçlarıyla doğrulanmış KKKA olgusu 2006 yılında saptanmıştır (14). Bu çalışmada 1 Ocak 2009 tarihinden 31 Aralık 2020’ye kadar ilimizdeki KKKA tanısıyla takip ettiğimiz hastalara ait epidemiyolojik, klinik ve laboratuvar özelliklerinin retrospektif olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

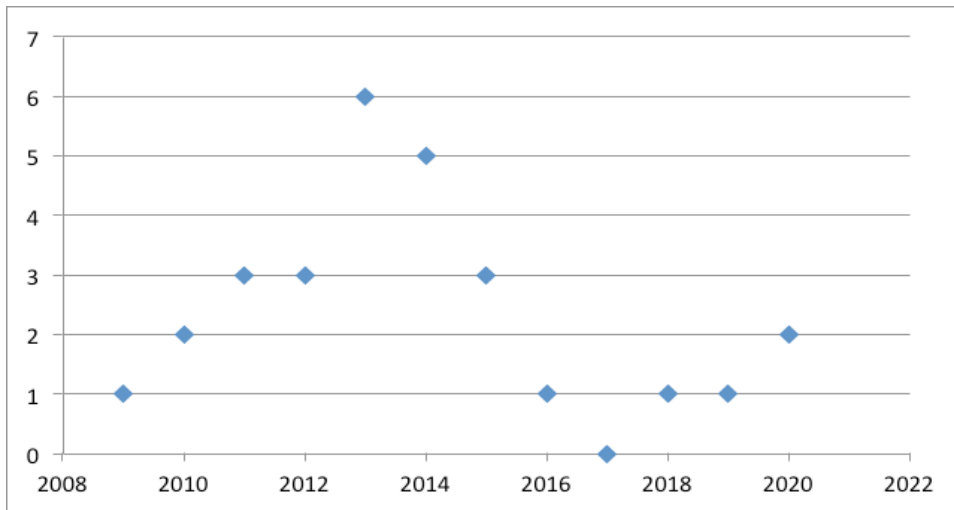
1 Ocak 2009- 31 Aralık 2020 tarihleri arasında yatarak izlenen Ters Transkriptaz-Polimeraz Zincir reaksiyonu (RT-PCR) ve ELISA ile KKKA tanısı doğrulanmış hastalara ait kayıtlar retrospektif olarak irdelendi. KKKA hastalarının epidemiyolojik, klinik ve laboratuvar bulguları, tedaviler ve klinik seyir not edildi. Çalışma için lokal etik komiteden onay alındı. Verilerin özetlenmesinde, kategorik yapıda

olan değişkenler sayı ve yüzde olarak sunulmuştur. Kategorik değişkenlerin analizinde Ki-kare testi kullanılmıştır. Tüm analizler, SPSS version 22 paket programı (SPSS inc., Chicago, IL, USA) ile yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir.

Bu çalışma, Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’nun onayı ile gerçekleştirilmiştir (Tarih:28.04.2021, Karar no: 2021/08-01).

BULGULAR

Çalışma dönemi boyunca toplam 28 hasta takip edilmiş olup, bunların 18 (%64,0)’i kadın idi. Hastaların yaş ortalaması $48,1\pm14,3$ yıl olarak hesaplandı. Hastaların 23 (%82,0)’ü kırsal bölgede yaşamaktaydı. Meslekler incelendiğinde %93,0’ünün çiftçilik ve hayvancılıkla uğraştığı tespit edildi. Tüm başvuruların ilkbahar ve yaz aylarında gerçekleştiği gözlemlendi. Hastalarda kene çıkarma sonrası şikayetlerin başlama süresi ort $3,6\pm1,8$ gün, şikayetler başladıktan sonra hastaneye başvuru süresi $3,1\pm1,64$ gündü. En sık görülen şikayet %96,4 ile ateş ve halsizlikti. Hastaların %82,0’inde hayvanlarla temas öyküsü vardı, kene tutunması öyküsü belirten hasta oranı %86,0 idi. Hastaların yıllara göre dağılımı Şekil 1’de verilmiştir.



Şekil 1. Yıllara göre Kütahya’da görülen KKKA olgularının dağılımı

Fizik muayenede hastaların %96,4'ünde ateş, %53,6'sında makulopapüler raş, %18,0'inde hematüri, %14,3'ünde diş eti kanaması, %17,9'unda hematüri, %7,0'sinde ekimoz, vajinal kanama, epistaksis ve gastrointestinal sistem kanama bulguları mevcuttu. Hastaların tümünde AST-ALT yüksekliği ve trombositopeni mevcuttu. Hastaların %93,0'ünde LDH, %75,0'inde CK yüksekliği saptandı. Lökopeni hastaların %93,0'ünde, anemi ise %35,7'sinde

mevcuttu. Kayıtlar incelendiğinde, hastaların %28,6'sına ribavirin tedavisi başlandığı tespit edilmiştir. Takip sürecinde hastaların %43,0'üne trombosit süspansiyonu, %25,0'ine taze donmuş plazma ve %7,0'sine eritrosit süspansiyonu verildiği, bir hastada (%3,6) ölüm gerçekleştiği tespit edildi. Hastalara ait epidemiyolojik, klinik ve laboratuvar bulguları Tablo 1 ve Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 1. KKKA tanısı ile izlenen hastalara ait epidemiyolojik ve klinik özellikler

Karakteristik	n (%)
Cinsiyet	
Erkek	10 (35,7)
Kadın	18 (64,3)
Yaş	48,1±14,3
Meslek	
Çiftçi	7 (25)
Hayvancılıkla uğraş	3(10,7)
Çiftçilik ve hayvancılık	16 (57,1)
Öğrenci	1(3,6)
Sağlık çalışanı	1 (3,6)
Hastalığın görüldüğü ay	
Nisan	2 (7,1)
Mayıs	6 (21,4)
Haziran	9 (32,1)
Temmuz	11 (39,3)
Başvuru anındaki şikayetler	
Ateş	27 (96,4)
Baş ağrısı	19 (67,9)
Vücut ağrısı	24 (85,7)
Halsizlik	27(96,4)
Bulantı	19(67,9)
Kusma	14(50)
İshal	10(35,7)
Karın ağrısı	10 (35,7)
Döküntü	14 (50)
Kanama	6 (21,4)
Kene tutunma öyküsü	24(85,7)
Hayvanlarla temas	23(82,1)
Son 2 hafta içinde kırsal bölgeye seyahat	4(14,3)
Kırsal bölgede yaşama	23(82,1)
Fizik muayene bulguları	
Ateş	27(96,4)
Bilinç bozukluğu	3(10,7)
Diş eti kanaması	4(14,3)
Hipo/hipertansiyon	8(28,6)
Taşikardi	9(32,1)
Epistaksis	2(7,1)
Splenomegali	5(17,9)
Ekimoz	2(7,1)
Hematüri	5(17,9)
Makulopapüler raş	15(53,6)
Vajinal kanama	2(7,1)
GIS kanama	2(7,1)
Hastanede yatış günü	8,3±2,7

Tablo 2. KKKA tanısı ile izlenen hastaların başvuru anındaki laboratuvar bulguları

Laboratuvar değeri	Ort+standart sapma
Beyaz küre	2640,7±1151,7
Trombosit	71392,8±28393,1
Hemogloblin	12,8±2,0
AST	226,3±228,0
ALT	114,6±91,7
LDH	608,1±399,9
CK	329,6±326,4
aPTT	36,9±10,4
INR	12,8±2,0
CRP	24,2±47,6

TARTIŞMA

Keneler, nispeten sıcak, kuru habitatlarda en kolay şekilde hayatta kalmaktadır. ılıman bir kış mevsiminin ardından azalan yağış nedeniyle kene yoğunluğu belirgin şekilde artar; bu koşullar artan insan KKKA vakaları ile ilişkili bulunmuştur (2,15,16) Kütahya ilinde kene türlerini inceleyen bir çalışmada *Hyalomma marginatum* Nisan-Temmuz ayları arasında görüldüğü bildirilmiştir (17). Ülkemizde yapılan çalışmalarda kene tutunma vakalarının ve KKKA vakalarının incelendiği çalışmalarda özellikle yaz aylarında vaka sayılarının artış gösterdiği belirtilmektedir (18-22). Acil servise kene tutunması ile başvuran vakaların incelendiği bir çalışmada 8 aylık bir dönem (Mart-Ekim) içinde en çok vakanın Mayıs- Temmuz döneminde görüldüğü bildirilmiştir (18). Çıtıl ve ark.nın çalışmaları, kene tutunması nedeniyle acil servise başvuran vakaların en yoğun olduğu ayların Nisan-Temmuz olduğu bildirilmiştir (19). Korkmaz ve ark.nın çalışmasında ise kene tutunma vakalarının en sık görüldüğü dönem Haziran ve Temmuz aylarıdır (22). Çalışmamızda da benzer şekilde, KKKA tanılı hastaların hastaneye başvuru yaptığı dönemler en sık ilkbahar ve yaz mevsimleri olarak tespit edilmiştir.

Tarım işçileri, kırsal kesimde hayvancılıkla uğraşanlar, mezbaha işçileri, veterinerler, avcılar, askerler, sağlık çalışanları ve endemik bölgelere seyahat edenler KKKA virüs enfeksiyonu açısından risk altındadır (2). Çalışmamızda KKKA vakalarının %92,3'ünün tarım ve hayvancılıkla uğraşı mevcuttu ve %96,4'ünün kırsal kesimde yaşama veya son 2 hafta içinde kırsal alana ziyaret öyküsü mevcuttu. Benzer şekilde Kadanalı ve ark.nın çalışmasında KKKA vakalarının %93,6'sının, Günaydın ve ark. nın çalışmasında tüm olguların ve Tartar ve ark. nın çalışmasında ise %98,4'ünün kırsal alanda yaşadığı tespit edilmiştir (21,23,24). Özkurt ve ark. nın çalışmasında ise kırsal alanda yaşamak ve kene ısırması, KKKA için bağımsız risk faktörleri olarak belirlenmiştir (20). Çalışmamızda da benzer şekilde, KKKA vakalarının %85,7'sinde kene tutunma öyküsü mevcuttu. 1800'den fazla KKKA vakasını içeren bir epidemiyolojik çalışmada, hastaların %69,0'u kene ısırığı veya kene teması öyküsü, %62,0'si hayvanlarla yakın temas ve %10,0'u hayvan vücut sıvıları veya dokusu ile doğrudan temas öyküsü bildirmiştir (4). Çalışmamızda kadın hastaların sayısı erkeklerden fazladır, kırsal alanda kadınların yaygın olarak tarımla uğraşması ve bu nedenle de çiftlik hayvanları ile yakın temasının erkeklerden fazla olabilmesinin

buna neden olduğu düşünülmüştür. Hastalığın kuluçka süresi 1 ila 13 gün arasında değişir; viral yük ve bulaşma tipi ile ilişkilidir. Kene ısırığından sonraki kuluçka süresi bir ile üç gün; kan ve vücut sıvıları ile teması takiben inkübasyon süresi üç ile yedi gündür (25,26). Çalışmamızda kene teması sonrası şikayetlerin başlama süresi ortalaması $3,6 \pm 1,8$ gündür, benzer olarak yapılan çalışmalarda kene teması sonrası semptomların ortaya çıkmasına kadar geçen süre 4 gün olarak bulunmuştur (20,21).

Ani başlayan ateş, baş ağrısı, yaygın kas ağrısı, halsizlik, iştahsızlık, karın ağrısı, bulantı, kusma ve bilinç değişikliği görülen şikayetler arasındadır. Yine burun ve diş eti kanamaları, gastrointestinal, genitoüriner, akciğer ve beyin kanamaları görülebilir. Ağır seyreden vakalarda hastalığın ileri evrelerinde akciğer, karaciğer ve kalp yetmezliği, hemodinamik instabilite, şok, dissemine intravasküler koagülasyon ve ölüm görülür (27). Akyol ve ark çalışmasında KKKA vakalarının tümünde ateş, halsizlik görülmüş, vakaların %56,2'sinde kanama saptanmıştır (28). Ruhsar ve ark çalışmasında ise yorgunluk, ateş, miyalji, baş ağrısı, bulantı en sık görülen şikayetler olarak saptanmış, hastaların %23,0'ünde kanama bulguları saptanmıştır (29). Benzer şekilde çalışmamızda ateş, halsizlik, vücut ağrısı, baş ağrısı, bulantı en sık görülen şikayetler arasında yer almıştır. Kanama bulguları ise vakaların %21,4'ünde saptanmıştır. KKKA hastalarında görülen en sık şikayetler nonspesifik özellikte olup, özellikle endemik bölgelerde mevsimsel özellik de gözönünde bulundurularak KKKA ayırıcı tanıda düşünülmeli, epidemiyolojik öykü ve laboratuvar bu tanıya yönelik olarak da irdelenmelidir.

KKKA hastalarında kanama, yapım eksikliği, yıkım fazlalığı, hemofagositoya bağlı trombositopeni ve lökopeni görülür, kanama olan vakalarda fibrin yıkım ürünleri artar. Hastalıkta karaciğer tutulumuna bağlı PT, aPTT, INR uzar, AST, ALT, LDH yüksekliği, kas tutulumuna bağlı CK ve AST yükseklik görülür, prerenal

azotemi, solunum yetmezliğine bağlı hipoksi ve asidoz yine görülebilen laboratuvar anormallikleridir (27). Çalışmamızda KKKA vakalarında en sık saptanan laboratuvar anormallikleri lökopeni, trombositopeni, AST-ALT, LDH ve CK yüksekliğidir. Benzer olarak yapılan çalışmalarda da en sık lökopeni, trombositopeni, AST, ALT, LDH ve CK yüksekliği tespit edilmiştir (4, 20, 29). Yapılan bir çalışmada KKKA vakalarında AST, ALT, ALP, LDH ve CRP seviyeleri ölüm gelişen vakalarda ölüm gelişmeyenlere göre daha yüksek; INR ve aPTT daha uzun ve ortalama trombosit sayısı daha düşük olarak saptanmıştır ($p < 0,05$) (30).

Hastalığın özgül bir tedavisi olmayıp, temel yaklaşım destek tedavidir. Klinik ve laboratuvar bulgularına göre trombosit süspansiyonu, taze donmuş plazma, tam kan verilmesi gerekebilir, ağır vakalarda solunum, dolaşım, beslenme desteği, sıvı-elektrolit dengesinin takibi gereklidir (21). Çalışmamızda da hastaların takibinde %43,0'üne trombosit süspansiyonu, %25,0'ine taze donmuş plazma, %7,0'sine eritrosit süspansiyonu verilmiştir. Tedavide kan ürünleri ve sıvı replasmanı kullanımının yanı sıra antiviral olarak ribavirin kullanımı da değerlendirilmelidir. Ribavirin invitro olarak KKKA virüsüne karşı en etkili ilaçtır. Gözlemsel çalışmalarda etkili bulunmuştur (31). Özellikle erken dönemde verildiğinde etkisi artmaktadır (31-33). Biz de tüm hastalarımız için ribavirin istemi yapmış olmamıza rağmen ilaç temininde yaşanan sorunlar ve gecikmeler nedeniyle hastalarımızın %28,6'sına ribavirin verilebilmiştir.

Sonuç olarak; KKKA ülkemizde önemini koruyan endemik bir hastalık olup, neredeyse tüm bölgelerden bildirilmektedir. Bölgemizde de hastalık mevsimsel özellik göstermekte ve endemik olarak görülmektedir. Özellikle ilkbahar ve yaz aylarında, kırsal kesimde yaşayan ya da kırsal bölgeye seyahat öyküsü bulunan; ateş ve halsizlik şikayetleri ile başvuran, lökopeni ve trombositopeni saptanan hastalarda KKKA ayırıcı tanıda mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır.

ETİK KURUL ONAYI

* Bu çalışma, Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirilmiştir (Tarih:28.04.2021, Karar no: 2021/08-01).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Res*, 2004; 64:145.
2. Leblecioğlu H. Crimean-Congo hemorrhagic fever. Erişim tarihi 06.05.2023. Available at: https://www.uptodate.com/contents/crimean-congo-hemorrhagic-fever?search=crimean%20congo&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1.
3. Anagnostou V, Papa A. Evolution of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever virus. *Infect Genet Evol*, 2009; 9:948.
4. Yılmaz GR, Buzgan T, Irmak H, Safran A, Uzun R, Cevik MA, et al. The epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey, 2002-2007. *Int J Infect Dis*, 2009; 13:380.
5. Bodur H, Akinci E, Ascioglu S, Öngörü P, Uyar Y. Subclinical infections with Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Turkey. *Emerg Infect Dis*, 2012; 18:640.
6. Elaldi N, Bodur H, Ascioglu S. Efficacy of oral ribavirin treatment in Crimean-Congo haemorrhagic fever: a quasi-experimental study from Turkey. *J Infect*, 2009; 58:238.
7. Leblebicioglu H, Ozaras R, Sunbul M. Crimean-Congo hemorrhagic fever: A neglected infectious disease with potential nosocomial infection threat. *Am J Infect Control*, 2017;45:815-6.
8. Dreshaj S, Ahmeti S, Ramadani N, Dreshaj G, Humolli I, Dedushaj I. Current situation of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Southeastern Europe and neighboring countries: a public health risk for the European Union? *Travel Med Infect Dis*, 2016; 14:81.
9. Keshtkar-Jahromi M, Sajadi MM, Ansari H, Mardani M, Holakouie-Naieni K. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Iran. *Antiviral Res*, 2013; 100:20.
10. Leblebicioglu H, Ozaras R, Irmak H, Sencan I. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey: Current status and future challenges. *Antiviral Res*, 2016; 126:21.
11. Nurmakhanov T, Sansyzbaev Y, Atshabar B, Deryabin P, Kazakov S, Zholshorinov A, et al. Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Kazakhstan (1948-2013). *Int J Infect Dis*, 2015; 38:19.
12. Shaikh MA, Safder S, Bhatti SA. Crimean Congo Haemorrhagic Fever: Breaking the chain of transmission. *J Pak Med Assoc*, 2015; 65:576.
13. Erişim tarihi:06.05.2023. Available at: <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/zoootikvektorel-kkka/zoootikvektorel-kkka-istatistik>
14. Suntur BM, Hepgüler S. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi: Kütahya'dan iki olgu sunumu. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*, 2007; 21: 45-7.

15. Lauterbach R, Wells K, O'Hara RB, Kalko EK, Renner SC. Variable strength of forest stand attributes and weather conditions on the questing activity of *Ixodes ricinus* ticks over years in managed forests. *PLoS One*, 2013; 8:e55365.
16. Gray JS, Dautel H, Estrada-Peña A, Kahl O, Lindgren E. Effects of climate change on ticks and tick-borne diseases in Europe. *Interdiscip Perspect Infect Dis*, 2009; 2009:593232.
17. İça A, Özkan F. Kütahya Yöresi'nde Yayılış Gösteren Kene Türlerinin Araştırılması. *Türkiye Parazitol Derg*, 2015; 39: 117-23.
18. Kandis H, Katirci Y, Baltacı D, Saritas A, Kara IH, Geyik MF. Investigation of clinical and laboratory findings of 26 cases with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Biomedical Research*, 2012; 23: 589-95.
19. Çıtıl R, Çolak İY, Esen M, Öner Y. 2012-2018 Yılları Arasında Tokat Gaziosmanpaşa Üniversite Hastanesi Acil Servisine Kene Teması İle Başvuran Olguların Epidemiyolojik İncelenmesi. *J Contemp Med*, 2020;10:253-60.
20. Özkurt Z, Kiki İ, Erol S, Erdem F, Yılmaz N, Parlak M, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Eastern Turkey: clinical features, risk factors and efficacy of ribavirin therapy. *Journal of Infection*, 2006;52:207-15.
21. Sağmak Tartar A, Özer Balın Ş, Akbulut A, Demirdağ K. Türkiye'nin doğusunda Kırım Kongo kanamalı ateşi: epidemiyolojik ve klinik değerlendirme. *Türkiye Parazitol Derg*, 2019;43: 26-9.
22. Korkmaz T, Sırmatel F, Boztaş G. Kene Tutunmasıyla Hastaneye Başvuran Olguların Değerlendirilmesi. *Klimik Derg*, 2011; 24: 44-7.
23. Günaydın N, Aydın K, Yılmaz, G, Çaylan HR, Köksal İ. Crimean-Congo hemorrhagic fever cases in the eastern Black Sea Region of Turkey: demographic, geographic, climatic, and clinical characteristics. *Türk J Med Sci*, 2010;40: 829-34.
24. Kadanalı A, Erol S, Özkurt Z, Özden K. Epidemiological risk factors for Crimean- Congo hemorrhagic fever patients. *Türk J Med Sci*, 2009;39:829-32.
25. Vorou R, Pierrotsakos IN, Maltezou HC. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Curr Opin Infect Dis*, 2007; 20:495.
26. Nabeth P, Thior M, Faye O, Simon F. Human Crimean-Congo hemorrhagic fever, Sénégal. *Emerg Infect Dis*, 2004; 10:1881.
27. Bodur H. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi. *FLORA*, 2009;14(1):1-9.
28. Akyol D, Erdem Kıvrak E, Erdem HA, Pullukçu H, Sipahi OR, Taşbakan M. Kırım-kongo kanamalı ateşi: 16 olgunun klinik özelliklerinin ve laboratuvar bulgularının retrospektif değerlendirilmesi. *FLORA*, 2020;25:544-8.
29. Binici İ, Tarcan T, Parlak M, İncecik Ş, Huyut Z, Akbay Hİ, et al. Kırım-Kongo kanamalı ateşi olgularının retrospektif olarak incelenmesi. *Van Sag Bil Derg*, 2022;15: 294-300.
30. Hatipoğlu CA, Bulut C, Yetkin MA, Ertem GT, Erdinc FS, Kilic EK, et al. Evaluation of clinical and laboratory predictors of fatality in patients with Crimean- Congo haemorrhagic fever in a tertiary care hospital in Turkey. *Scand J Infect Dis*, 2010;42:516-21.
31. Ergönül Ö. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Tedavisi ve Ribavirin Kullanımı. *Klimik Derg*, 2016; 29: 2-9.
32. Bakır Ozbey S, Kader Ç, Erbay A, Ergönül Ö. Early use of ribavirin is beneficial in Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2014;14:300-2.
33. Dokuzoguz B, Kocagül Celikbas A, Gök SE, Baykam N, Eroglu MN, Ergönül Ö. Severity scoring index for Crimean-Congo hemorrhagic fever and the impact of ribavirin and corticosteroids on fatality. *Clin Infect Dis*, 2013;57:1270-4.

Assessment of the relationship between fear of COVID-19 and emotional eating behavior of healthcare professionals

Sağlık çalışanlarının COVID-19 korkusu ile duygusal yeme davranışları arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

İrem Merve TÜRK¹ (ID), Esen YEŞİL¹ (ID)

ABSTRACT

Objective: Negative situations experienced by healthcare professionals, such as the increased workload, the anxiety of being infected and infecting the individuals around them, have led to negative emotions such as fear and stress. In this study, it was aimed to evaluate the relationship between the fear of Novel Coronavirus Disease (COVID-19) and emotional eating behaviors of healthcare professionals.

Methods: This study was carried out between 01 June - 31 July 2022, with the participation of 200 volunteers, aged 19-64, work in a state hospital, Turkey. Questionnaire consisting of questions to define demographic information, health status, fear of COVID-19 scale, emotional eater questionnaire (EEQ) was applied to individuals and anthropometric measurements of individuals were taken.

Results: 62.0 % (n=132) of the participants were diagnosed with COVID-19. Fear of COVID-19 scale scores of participants who did not have COVID-19 were found to be statistically significantly higher than those diagnosed with COVID-19 ($p<0.001$). Fear of COVID-19 scale and EEQ

ÖZET

Amaç: Sağlık çalışanlarının iş yükünün artması, enfekte olma ve çevresindeki bireylere de bulaştırma endişesi gibi yaşadığı olumsuz durumlar, korku ve stres gibi olumsuz duyguların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu çalışmada sağlık çalışanlarının Yeni Koronavirüs Hastalığı (COVID-19) korkusu ile duygusal yeme davranışları arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışma 01 Haziran - 31 Temmuz 2022 tarihleri arasında Türkiye'deki bir devlet hastanesinde çalışan 19-64 yaş arası 200 gönüllünün katılımıyla gerçekleştirilmiştir. Katılımcılara demografik bilgilerini, sağlık durumlarını ve beslenme alışkanlıklarını tanımlamaya yönelik sorulardan oluşan anket formu, COVID-19 korkusu ölçeği ve DYÖ (duygusal yeme ölçeği) uygulanarak bireylerin antropometrik ölçümleri alınmıştır.

Bulgular: Katılımcıların %62 (n=132)'si COVID-19 tanısı almıştır. COVID-19 almayan katılımcıların COVID-19 korkusu ölçeği puanları COVID-19 tanısı alanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde

¹Baskent University, Department of Nutrition and Dietetics, Ankara, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Esen YEŞİL

Başkent Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara - Türkiye

E-posta / E-mail : esezer@baskent.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 26.12.2023

Kabul Tarihi / Accepted : 26.07.2024

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2025.45466

Türk İM, Yeşil E. Assessment of the relationship between fear of COVID-19 and emotional eating behavior of healthcare professionals. Türk Hij Den Biyol Derg, 2025; 82(2): 257 - 266

scores of female healthcare professionals were higher than males ($p=0.018$; $p=0.003$). EEQ scores of those diagnosed with COVID-19 and those who did not were found to be similar ($p>0.05$). A low level, positive and significant relationship was found between the fear of COVID-19 scale and EEQ scores of healthcare professionals who diagnosed with COVID-19 ($r=0.288$; $p<0.001$). A moderate level, positive and significant relationship was found between the fear of COVID-19 scale and EEQ scores of healthcare professionals who did not diagnose with COVID-19 ($r=0.316$; $p=0.005$). No significant correlation was found between the fear of COVID-19 scale scores and age and BMI (respectively $r=0.083$; $p=0.244$; $r=0.136$; $p=0.054$). A positive and significant correlation was found between the EEQ scores and body mass index (BMI) values of all healthcare professionals participating in the study ($r=0.159$; $p=0.024$).

Conclusion: A positive and significant relationship was found between the fear of COVID-19 and EEQ scores of all healthcare professionals participating in the study. The fear of COVID-19 scale scores of healthcare professionals who diagnosed with COVID-19 are higher than those of healthcare professionals who did not.

Key Words: Fear of COVID-19, emotional eating, fear

yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Kadınların COVID-19 korkusu ölçeği ve duygusal yeme puanları erkeklerden daha yüksek belirlenmiştir (sırasıyla $p=0,018$ ve $p=0,003$). COVID-19 tanısı alan ve almayanların DYÖ puanları benzer bulunmuştur ($p= 0,237$). COVID-19 tanısı alan katılımcıların COVID-19 korkusu ölçeği ile duygusal yeme puanları arasında düşük düzeyde pozitif ilişki saptanmıştır ($r=0,288$; $p<0,001$). COVID-19 tanısı almayan katılımcıların COVID-19 korkusu ölçeği ile duygusal yeme puanları arasında orta düzeyde pozitif ve anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($r=0,316$; $p=0,005$). COVID-19 korkusu ölçeği puanları ile yaş ve beden kütle indeksi (BKİ) arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (sırasıyla $r=0,083$; $p=0,244$; $r=0,136$; $p=0,054$). Katılımcıların DYÖ puanları ile BKİ değerleri arasında pozitif yönlü anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir ($r=0,159$; $p=0,024$).

Sonuç: Çalışmaya katılan tüm sağlık çalışanlarının COVID-19 Korkusu ölçeği puanları ile duygusal yeme puanları arasında pozitif ve anlamlı bir ilişki bulunmuştur. COVID-19 tanısı alan sağlık çalışanlarının COVID-19 korkusu ölçeği puanları daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: COVID-19 korkusu, duygusal yeme, korku

INTRODUCTION

Researches on emotional eating have focused on the role of negative emotions, such as stress, in explaining binge eating (1, 2). In a study, it was reported that female college students believed that the trigger of their emotional eating behaviors was stress. It has been stated that higher stress levels are associated with higher food consumption (3). Chronic stress is associated with higher consumption of energy-dense foods, which are high in sugar and fat (4). Consuming certain foods might act as a distraction and

therefore can be used to eliminate negative emotions or improve mood (5). In the COVID-19 pandemic, the combination of stress, anxiety and depression due to this unprecedented situation also affected eating behaviors (6). Studies have revealed that increased emotional eating behavior is significantly and directly related to negative emotions, and this is mediated by fear of COVID-19 and fear-related depression symptoms (7-9).

Fear is an adaptive defense mechanism that includes various biological readiness processes to respond to potentially threatening events such as

pandemics, which is a fundamental factor for survival (10). Neurobiologically, significant progress has been made in identifying fear mechanisms. Dysfunctions in these fear mechanisms can lead to chronic psychiatric disorders (11). Fear of contracting an illness can lead to psychiatric disorders as well as negative coping mechanisms. Having sufficient information about the feared disease can alleviate this fear (12).

A survey study suggested that emotions have different effects on the amount of food intake. In the study, participants were asked to imagine themselves in a number of emotional states and then reported how much they would eat in these emotional states. Higher food consumption has been reported during boredom, depression, and fatigue. Lower food consumption has been reported during fear, pain, and tension (13). Pak et al. (7) reported that there is no direct relationship between emotional eating and fear of COVID-19, there is a positive relationship between fear of COVID-19 and depression, and this relationship between fear of COVID-19 and emotional eating is mediated by depression.

In this study, it was aimed to evaluate the relationship between the fear of COVID-19 and emotional eating behaviors of healthcare professionals. In addition, it was aimed to compare individuals with and without a diagnosis of COVID-19 in terms of COVID-19 fear and emotional eating behaviors.

MATERIAL and METHOD

Participants and procedure

This study was carried out between 01 June-31 July 2022, with the participation of 200 volunteers, aged 19-64, work in Afyonkarahisar State Hospital. Based on percentage measurement values related to the methods to be studied in the literature, a 0.8 effect size, 80% power, and a 0.05 error margin were used with G-POWER to determine a total sample size of at least 180. Individuals who were previously diagnosed with eating disorders, individuals who follow a weight loss diet, pregnant and lactating

individuals were not included in the study. All the information of the individuals included in the study was obtained by using the face-to-face interview technique by a dietician.

Anthropometric measurements

The height, body weight, waist and hip circumference measurements of the individuals were measured by the researcher and recorded on the questionnaire. During the measurements, due to the severe acute respiratory syndrome corona virus-2 pandemic, necessary precautions were taken. Body weight and height were measured and BMI was calculated (14, 15).

Fear of COVID-19 scale

In this study, the fear of COVID-19 scale was used to measure the level of fear of COVID-19 in healthcare professionals. This scale was developed by Ahorsu et al. (16) to measure the COVID-19-induced fear levels of individuals. The Turkish validity and reliability study of this scale was made by Ladikli et al. (17). Their items of the scale were created based on a comprehensive review of existing scales on fear, expert assessments, and participant interviews. The scale has a single factor structure and consists of seven Likert-type (1 = strongly disagree; 5 = strongly agree) items. There is no reversed item in the scale. The internal consistency of the scale was 0.82 and the test-retest reliability was 0.72. A high score from the scale indicates a high fear of COVID-19 (17).

Emotional eater questionnaire

The emotional eater questionnaire was developed by Garaulet et al. (18). The questionnaire consists of 10 items and three sub-dimensions (disinhibition, type of food, guilt) and the questions are on a Likert-type scale with 4 options ("0" Never, "1" Sometimes, "2" Generally and "3" Always) is answered. There is no reverse item in the scale. The lowest "0" and the highest "30" points are taken from the scale. High scores from the scale indicate a high level of emotional eating behavior (19). In the exploratory factor analysis applied to examine the construct validity in

the development study of the questionnaire; Three factors, namely disinhibition, type of food, and guilt, explaining 60.4% of the total variance were obtained. The internal consistency coefficients of the questionnaire were 0.77 for the dimension of disinhibition, 0.66 for the type of food dimension, and 0.61 for guilt dimension. In the questionnaire, score between 0-5 defined as non-emotional eater. Score between 6-10 defined as low emotional eater. Score between 11-20 defined as emotional eater. Score between 21-30 defined as very emotional eater.

The validity and reliability study of the Turkish translation of the scale was made by Arslantaş et al. (19). The Cronbach's alpha internal consistency coefficient of the questionnaire was calculated as 0.84 (95% CI=0.82-0.86) (19).

Statistical analysis

The data collected during the research were recorded for analysis in the Statistical Package for the Social Sciences (IBM SPSS Statistics 22) program. Continuous variables obtained from the questionnaires were expressed as mean ($\bar{X}$), standard deviation (SD), and categorical variables as numbers (n) and percentage (%). The conformity of the data to the normal distribution was analyzed according to the skewness and kurtosis values. Independent

groups t-test was used to analyze the significance between two groups in the data suitable for normal distribution, and one-way analysis of variance (ANOVA) test was used to analyze the significance between more than two groups. Pearson correlation test was used for normally distributed data to analyze the correlation between numerical measurements. The statistical significance level in the tests was evaluated as $p < 0.05$.

This study was approved by Başkent University Institutional Review Board and Ethics Committee (Date:25.05.2022 and Number :E-85878037-604.01.02-131488) and supported by Başkent University Research Fund (Project no: KA22/101).

RESULTS

66.0% (132) of healthcare professionals were female; 34.0% (68) were male. 76.5% (153) of the participants stated that they are married and 23.5% (47) are single/divorced. 84.0% (168) of the healthcare professionals have bachelor's degree, 8.5% (17) have postgraduate degree and 7.5% (15) have high school degree (Table 1).

Table 1. The demographic characteristics of the participants

	Person (n=200)	
	n	%
Age ($\pm$ SD) year	40.0 $\pm$ 9.21	
Sex		
Female	132	66.0
Male	68	34.0
Marital Status		
Married	153	76.5
Single/divorced	47	23.5
Educational Status		
High School	15	7.5
Bachelor's Degree	168	84.0
Postgraduate Degree	17	8.5

Table 1 (cont.). The demographic characteristics of the participants

Person (n=200)		
Age (±SD) year	40.0±9.21	
	n	%
Sex		
Profession		
Doctor	6	3.0
Nurse	123	61.5
Healthcare Technician	57	28.5
Others (Medical secretary, Administrative staff)	14	7.0
Income Status		
Income less than expenses	57	28.5
Income equals expenses	106	53.0
Income more than expenses	37	18.5
Living Environment		
Alone	23	11.5
With spouse	23	11.5
With spouse and children	128	64.0
With parents and/or grandparents	15	7.5
Others (With children, with roommate)	11	5.5
Smoking Habits		
Yes	72	36.0
No	128	64.0
Amount		
±SD (pieces/day)	13.9±6.46	
Alcohol Consumption Habits		
Yes	17	8.5
No	183	91.5
Amount		
±SD (mL/week)	207.6±250.46	
Diagnosed with COVID-19		
Yes	124	62.0
No	76	38.0
Chronic Diseases		
Yes	55	27.5
No	145	72.5
Chronic Diseases*		
Diabetes	18	32.7
Hypertension	18	32.7
Chronic Respiratory Diseases (COPD, Asthma etc.)	10	18.2
Hypothyroidism	8	14.5
Others (Familial Mediterranean Fever, Ankylosing Spondylitis, Lipid Storage Myopathy, Gastric Cancer, Rheumatism, Sjogren's Syndrome)	13	23.6

Table 1 (cont.). The demographic characteristics of the participants

Person (n=200)		
Age ($\pm$ SD) year	40.0 $\pm$ 9.21	
	n	%
Sex		
Vitamin/Mineral Consumption		
Yes	31	15.5
No	169	84.5
Frequency of Consumption		
Daily	6	19.4
5-6 times per week	1	3.2
3-4 times per week	5	16.1
1-2 times per week	14	45.2
2 times per month	1	3.2
Once in a month	4	12.9
Supplements		
Multivitamin	10	32.3
Vitamin C	7	22.6
Vitamin D	14	45.2

*P.S. = Participants selected more than one option

A significant difference was found between the fear of COVID-19 scale scores of healthcare workers who diagnosed COVID-19 (13.5 $\pm$ 5.56) and those who did not (16.8 $\pm$ 7.51) ($p<0.001$). The fear of COVID-19 scale scores of healthcare professionals who diagnosed with COVID-19 did not show a significant difference according to BMI groups and chronic disease status ($p=0.165$). However, it showed that female healthcare professionals who diagnosed with COVID-19 have higher fear of COVID-19 scale scores than males ($p=0.026$). The fear of COVID-19 scale scores of female healthcare professionals were significantly higher than those of their male counterparts ($p = 0.018$) (Table 2).

No significant difference was found between the EEQ scores of healthcare professionals who diagnosed with COVID-19 (10.9 $\pm$ 6.33) and those who did not (9.9 $\pm$ 5.79) ($p=0.237$). It was observed that female healthcare professionals who diagnosed with COVID-19 had higher EEQ scores ($p=0.012$). It was observed that all female healthcare professionals

had higher EEQ scores ($p=0.003$) (Table 3).

A positive and significant relationship was found between the fear of COVID-19 scale and EEQ scores of healthcare professionals who diagnosed with COVID-19 ($r=0.288$; $p<0.001$). A positive and significant relationship was found between the fear of COVID-19 scale and EEQ scores of healthcare professionals who did not diagnose with COVID-19 ($r=0.316$; $p=0.005$). No significant correlation was found between the fear of COVID-19 scale and age and BMI (respectively $r=0.083$; $p=0.244$; $r=0.136$; $p=0.054$). A positive and significant relationship was found between the fear of COVID-19 scale and EEQ scores of all healthcare professionals ($r=0.264$; $p=0.005$). A significant correlation was found between the EEQ scores and BMI values of healthcare professionals who did not diagnose with COVID-19 ($r=0.227$; $p=0.048$). A positive and significant relationship was found between the EEQ scores and BMI values of all health professionals ($r=0.159$; $p=0.024$) (Table 4).

Table 2. Comparison of fear of COVID-19 scale scores in terms of some demographic characteristics of individuals according to their COVID-19 status

Fear of COVID-19 scale scores	Diagnosed with COVID-19 (n=124)	Did not diagnose with COVID-19 (n=76)	Total (n=200)
	x±SD	x±SD	x±SD
BMI			
Underweight	17.5±14.84	13.5±9.19	15.5±10.34
Normal Weight	13.7±5.53	15.9±7.11	14.5±6.19
Overweight	12.5±4.53	17.1±7.19	13.9±5.81
Obese	15.5±7.05	17.8±8.47	16.8±7.87
p ^b	0.165	0.751	0.133
Chronic Diseases			
Yes	14.3±5.81	17.7±7.85	15.8±6.95
No	13.2±5.49	16.3±7.38	14.3±6.37
p ^a	0.348	0.473	0.142
Sex			
Female	14.2±5.70	17.7±6.90	15.5±6.36
Male	11.9±4.97	15.1±8.34	13.2±6.71
p ^a	*0.026	0.145	*0.018

*: p<0.05, BMI: Body Mass Index, a: Independent Groups t-Test, b: One-Way ANOVA

Table 3. Comparison of individuals' EEQ scores in terms of some demographic characteristics according to their COVID-19 status

EEQ scores	Diagnosed with COVID-19 (n=124)	Did not diagnose with COVID-19 (n=76)	Total (n=200)
	x±SD	x±SD	x±SD
BMI			
Underweight	7.0±5.65	8.0±2.82	7.5±3.69
Normal Weight	10.3±6.19	8.6±5.67	9.7±6.03
Overweight	11.1±5.62	10.2±6.26	10.9±5.79
Obese	12.4±8.61	11.2±5.59	11.7±7.00
p ^b	0.521	0.441	0.249
Chronic Diseases			
Yes	11.0±6.30	11.2±6.05	11.1±6.13
No	10.9±6.38	9.2±5.61	10.3±6.15
p ^a	0.922	0.162	0.412
Sex			
Female	11.9±6.53	10.6±6.15	11.4±6.40
Male	8.9±5.43	8.6±4.95	8.7±5.20
p ^a	*0.012	0.136	*0.003

*: p<0.05, BMI: Body Mass Index, a: Independent Groups t-Test, b: One-Way ANOVA

Table 4. The relationship between the fear of COVID-19 scale and the EEQ according to individuals' COVID-19 Status

	Fear of COVID-19 Scale						Emotional Eater Questionnaire					
	Diagnosed with COVID-19 (n=124)		Did not diagnose with COVID-19 (n=76)		Total (n=200)		Diagnosed with COVID-19 (n=124)		Did not diagnose with COVID-19 (n=76)		Total (n=200)	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
Fear of COVID-19 scale	-	-	-	-	-	-	0.288	*0.001	0.316	*0.005	0.264	*0.000
Emotional eater questionnaire	0.288	*0.001	0.316	*0.005	0.264	*0.000	-	-	-	-	-	-
Age (years)	0.011	0.905	0.073	0.865	0.083	0.244	-0.113	0.212	-0.020	0.865	-0.100	0.158
BMI (kg/m ²)	0.045	0.616	0.175	0.131	0.136	0.054	0.137	0.131	0.227	*0.048	0.159	*0.024

BMI: Body Mass Index, *: $p < 0.05$, r =Pearson Correlation

DISCUSSION

Negative emotions are associated with emotional eating. An increase in negative emotions causes an increase in emotional eating (9). The increase in negative emotions triggers emotional eating and causes the individual to view eating as a temporary distraction and emotional relief. This momentary sense of relief after eating alters the individual's ability to learn and apply adaptive strategies to cope with negative emotions in the long run, which may lead to the continuation of the emotional eating cycle (20). Studies show that COVID-19 causes negative emotions such as stress, fear, and depression, and these negative emotions mediate the relationship between COVID-19 and emotional eating (7, 9).

Consumption of supplements has increased during the pandemic. Although most individuals state that they take supplements to strengthen their immune system, it is known that the supplements used do not prevent COVID-19. However, it has been stated that the use of vitamin D, vitamin C, zinc and selenium supplements may be beneficial, especially in those diagnosed with malnutrition and those with upper respiratory tract infections (21). In this study, 15.5% of healthcare professionals stated that they use vitamins/minerals. Considering the supplements, 32.3% of the vitamin/mineral users use multivitamins, 22.6% use vitamin C and 45.2% use vitamin D (Table 1). Using vitamin D supplements

reduces the risk of infection in viral diseases such as COVID-19 (22). The reason why 45.2% of healthcare professionals who use supplements prefer vitamin D supplements may be their awareness of this issue.

Extraordinary situations such as pandemics can cause fear in many people. This fear has caused individuals to commit suicide because they think they have COVID-19. Autopsy reports were examined in studies, and COVID-19 was not found in individuals who committed suicide due to this disease (23, 24). There is a positive relationship between fear, depression, anxiety and stress (23). In this study, a significant difference was found between the COVID-19 Fear scale scores of healthcare workers who diagnosed with COVID-19 and those who did not ($p < 0.001$) (Table 2). Healthcare professionals who did not diagnose with COVID-19 have more fear of COVID-19 than healthcare professionals who diagnosed with COVID-19. It is thought that reasons such as the feeling of uncertainty, excessive exposure to media, and the anxiety caused by the news about COVID-19 may be related to the higher scale scores of healthcare professionals who did not diagnosed with COVID-19.

In studies conducted with the Fear of COVID-19 Scale, it was observed that females scored higher on the scale than males, that is, their fear of COVID-19 was higher (25-27). Similarly, in this study, female healthcare professionals had higher fear of COVID-19 scale scores than males ($p = 0.018$) (Table 2). Women work under intense stress have difficulty in balancing

their home and work life due to their traditional roles in society. In addition to the fact that this situation is related to the issue of gender inequality, it is thought that the increase in female employment in recent years may cause negative emotions such as fear and stress to be felt more intensely.

In a study, it was observed that women were more prone to emotional eating than men (28). Similarly, in this study, it was observed that the EEQ scores of female healthcare professionals were higher ($p=0.003$) (Table 3). Although individuals who diagnosed with COVID-19 had a slightly higher EEQ scores than individuals who did not diagnose with COVID-19, no significant difference was found between these scores ($p>0.05$). The effects of negative emotions such as fear and stress on eating behavior have been shown in many studies (1, 2, 7). It is an important limitation of the study that individuals with asymptomatic progressing COVID-19 disease are considered as not having the disease in this study. The fact that the statistical difference between the groups was not significant may be related to this situation.

In a study, Geliebter and Aversa (29) observed that individuals with high BMI values tend to emotional eat more when they are in negative emotions compared to individuals with normal and low BMI values. In another study, a positive and significant relationship was found between BMI and emotional eating (30). In this study, a positive and significant relationship was found between EEQ scores and BMI values of all healthcare professionals ($r=0.159$; $p=0.024$) (Table 4).

In a study conducted in Türkiye, a positive relationship was found between fear of COVID-19

and emotional eating (7). No direct link has been found between fear of COVID-19 and emotional eating. However, it has been observed that there is a direct link between negative emotions and emotional eating. Fear is an emotion that can cause negative emotions such as depression. Negative emotions are also thought to mediate the relationship between fear of COVID-19 and emotional eating (7, 9). In this study, a positive and significant relationship was found between the COVID-19 fear scale and EEQ scores of all healthcare professionals participating in the study ($r=0.264$; $p=0.005$) (Table 4).

This study has some limitations. The easing of the COVID-19 pandemic and the reduced uncertainty faced by healthcare professionals compared to the early months of the pandemic may have led to a decrease in the number of individuals experiencing fear. On the other hand, cases that progressed asymptotically were accepted as individuals who did not have the disease in this study.

In conclusion, a positive relationship was found between fear of COVID-19 and emotional eating behavior. The fear of COVID-19 scale scores of healthcare professionals who diagnosed with COVID-19 were higher than those of workers who did not diagnosed. Female healthcare professionals scored higher on the fear of COVID-19 scale and the EEQ. A positive and significant relationship was found between the fear of COVID-19 and EEQ scores of all healthcare professionals participating in the study. More studies are needed to evaluate the relationship and mediating mechanisms between fear and emotional eating.

ETHICS COMMITTEE APPROVAL

* The study was approved by Başkent University Institutional Review Board and Ethics Committee (Date:25.05.2022 and Number:E-85878037-604.01.02-131488).

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Lowe MR, Fisher EB. Emotional reactivity, emotional eating, and obesity: a naturalistic study. *J Behav Med*, 1983; 6(2):135-49.
2. Greeno CG, Wing RR. Stress-induced eating. *Psychol Bull*, 1994; 115(3): 444-64.
3. Bennett J, Greene G, Schwartz-Barcott D. Perceptions of emotional eating behavior. a qualitative study of college students. *Appetite*, 2013; 60: 187-92.
4. Torres SJ, Nowson CA. Relationship between stress, eating behavior, and obesity. *Nutrition*, 2007; 23(11-12): 887-94.
5. Tice DM, Bratslavsky E. Giving in to feel good: the place of emotion regulation in the context of general self-control. *Psychol Inq*, 2000;11(3): 149-59.
6. Cecchetto C, Aiello M, Gentili C, Ionta S, Osimo SA. Increased emotional eating during COVID-19 associated with lockdown, psychological and social distress. *Appetite*, 2021; 160: 105122.
7. Pak H, Süsen Y, Denizci Nazlıgül M, Griffiths M. The mediating effects of fear of COVID-19 and depression on the association between intolerance of uncertainty and emotional eating during the COVID-19 pandemic in Turkey. *Int J Ment Health Ad*, 2021; 20(3):1882-96.
8. Yoldas Ilktac H, Savci C, Cil Akinci A. Nutritional behavior during the COVID-19 pandemic: the association of fear and sleep quality with emotional eating. *Eat Weight Disord*, 2022; 27(7): 2673-83.
9. Dominte ME, Swami V, Enea V. Fear of COVID-19 mediates the relationship between negative emotional reactivity and emotional eating. *Scand J Psychol*, 2022; 63(5): 462-7.
10. Ornell F, Schuch JB, Sordi AO, Kessler FHP. "Pandemic fear" and COVID-19: mental health burden and strategies. *Braz J Psychiatry*, 2020; 42(3): 232-5.
11. Garcia R. Neurobiology of fear and specific phobias. *Learn Mem*, 2017; 24(9): 462-71.
12. Alsolais A, Alquwez N, Alotaibi KA, Alqarni AS, Almalki M, Alsolami F, et al. Risk perceptions, fear, depression, anxiety, stress and coping among Saudi nursing students during the COVID-19 pandemic. *J Ment Health*, 2021; 30(2): 194-201.
13. Mehrabian A. Basic Dimensions for a General Psychological Theory: Implications for Personality, Social, Environmental, and Developmental Studies. Cambridge: Oelgeschlager, Gunn & Hain.1980.
14. Baysal A, Aksoy M, Besler HT, Bozkurt N, Keçecioglu S, Merdol T, et al. *Diyet El Kitabı*. 5. baskı. Ankara: Hatipoğlu Yayınevi. 2008.
15. Body Mass Index-BMI. World Health Organization. <http://www.euro.who.int/en/health-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle/body-mass-index-bmi>, (Accessed Dated: November 11, 2022).
16. Ahorsu DK, Lin CY, Imani V, Saffari M, Griffiths MD, Pakpour AH. The fear of COVID-19 scale: development and Initial Validation. *Int J Ment Health Addict*, 2020;1-9.
17. Ladikli N, Bahadır E, Yumuşak FN, Akkuzu H, Karaman G, Türkka, Z. Kovid-19 Korkusu ölçeğinin Türkçe güvenilirlik ve geçerlik çalışması. *Int J Soc Sci*, 2020; 3(2): 71-80.
18. Garaulet M, Canteras M, Morales E, López-Guimerà G, Sánchez-Carracedo D, Corbalán-Tutau MD. Validation of a questionnaire on emotional eating for use in cases of obesity; the emotional eater questionnaire (EEQ). *Nutr Hosp*, 2021; 27(2): 645-51.
19. Arslantaş H, Dereboy F, Yüksel R, İnalkaç S. Duygusal yeme ölçeğinin türkçe çevirisinin geçerlik ve güvenilirlik çalışması. *Türk Psikiyatri Derg*, 2019; 30: 1-10.
20. Litwin R, Goldbacher EM, Cardaciotto L, Gambrel LE. Negative emotions and emotional eating: the mediating role of experiential avoidance. *Eat Weight Disord*, 2017; 22(1): 97-104.
21. Aysin E, Urhan M. Dramatic increase in dietary supplement use during Covid-19. *Curr Dev Nutr*, 2021; 5 (Supplement 2): 207.
22. Grant WB, Lahore H, McDonnell SL, Baggerly CA, French CB, Aliano JL, et al. Evidence that vitamin D supplementation could reduce risk of influenza and COVID-19 infections and deaths. *Nutrients*, 2020; 12(4): 988.
23. Goyal K, Chauhan P, Chhikara K, Gupta P, Singh MP. Fear of COVID 2019: first suicidal case in India! *Asian J Psychiatr*, 2020. 49, Article 101989.
24. Mamun MA, Griffiths MD. First COVID-19 suicide case in Bangladesh due to fear of COVID-19 and xenophobia: possible suicide prevention strategies. *Asian J Psychiatr*, 2020; 51: 102073.
25. Broche-Pérez Y, Fernández-Fleites Z, Jiménez-Puig E, Fernández-Castillo E, Rodríguez-Martin BC. Gender and fear of COVID-19 in a Cuban population sample. *Int J Ment Health Addict*, 2022; 20(1): 83-91.
26. Reznik A, Gritsenko V, Konstantinov V, Khamenka N, Isralowitz R. COVID-19 fear in Eastern Europe: validation of the fear of COVID-19 scale. *Int J Ment Health Addict*, 2021; 19(5): 1903-8.
27. Doshi D, Karunakar P, Sukhabogi JR, Prasanna JS, Mahajan SV. Assessing coronavirus fear in Indian population using the fear of COVID-19 scale. *Int J Ment Health Addict*, 2021;19(6): 2383-91.
28. Péneau S, Menard E, Mejean C, Bellisle F, Hercberg S. Sex and dieting modify the association between emotional eating and weight status. *Am J Clin Nutr*, 2013; 97(6): 1307-13.
29. Geliebter A, Aversa A. Emotional eating in overweight, normal weight, and underweight individuals. *Eat Behav*, 2003; 3(4): 341-7.
30. Lazarevich I, Camacho MEI, del Consuelo Velázquez-Alva M, Zepeda MZ. Relationship among obesity, depression, and emotional eating in young adults. *Appetite*, 2016; 107, 639-44.

Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımının değerlendirilmesi

Evaluation of the distribution of *Candida* species isolated from clinical specimens of patients hospitalized in intensive care units

Hacer Özlem KALAYCI¹ (ID), Mustafa Kerem ÇALGIN¹ (ID)

ÖZET

Amaç: Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda *Candida* türlerine bağlı enfeksiyonlar önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Yoğun Bakım Ünitelerinde sıklıkla rastlanan *Candida* türü *Candida albicans* olmasına rağmen son zamanlarda diğer *Candida* türlerinin sıklığında da artış dikkat çekmektedir. Bu çalışmada, hastanemizin Yoğun Bakım Ünitelerinde yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımının retrospektif olarak incelenmesi ile epidemiyolojik verilere ve ampirik antifungal tedavi seçimine katkı sağlamak amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada 01 Mayıs 2021 - 30 Ağustos 2023 tarihleri arasında hastanemiz Yoğun Bakım Ünitelerinde yatan hastaların çeşitli kültür örneklerinden izole edilen *Candida* türleri irdelenmiştir. Kan örnekleri otomatize kan kültür cihazında (BACTEC 9120, ABD) 5 gün inkübe edilmiştir. Pozitif sinyal veren kan kültürü örnekleri ve diğer klinik örnekler koyun kanlı agar ve EMB agar besiyerlerine ekilmiştir. Besiyerlerinde üreyen maya izolatlarının tanımlanması Phoenix otomatize

ABSTRACT

Objective: Infections due to *Candida* species are an important cause of mortality and morbidity in patients hospitalized in intensive care units. Although *C. albicans* is the most frequently encountered *Candida* species in Intensive Care Units, the frequency of other *Candida* species has recently increased. In this study, we aimed to contribute to epidemiologic data and empirical antifungal treatment selection by retrospectively analyzing the distribution of *Candida* species isolated from various clinical specimens of patients hospitalized in the Intensive Care Units of our hospital.

Methods: In the study, *Candida* isolated from various culture samples of patients hospitalized in the Intensive Care Units of our hospital between 01 May 2021 - 30 August 2023 were examined. Blood samples were incubated in an automated blood culture device (BACTEC 9120, USA) for 5 days. Blood culture samples with positive signals and other clinical specimens were inoculated on sheep blood agar and EMB agar media. The yeast isolates grown on the media were identified

¹Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., Ordu, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Hacer Özlem KALAYCI
Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., Ordu - Türkiye
E-posta / E-mail : ozlemtekeli55@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 23.01.2024
Kabul Tarihi / Accepted : 05.11.2024

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2025.58260

Kalaycı HÖ, Çalgın MK. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımının değerlendirilmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2025; 82(2): 267 - 274

identifikasyon sistemi (BD, Sparks, ABD) kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular: Toplam 464 *Candida* üremesi tespit edilmiştir. Hastaların %49,1'i *C. albicans*, %50,9'u ise non-albicans *Candida* olarak tespit edilmiştir. Non-albicans *Candida*'ların %31,5'i *C. tropicalis*, %10,3'ü *C. parapsiosis* ve %9,1'i *C. glabrata* olarak belirlenmiştir. İdrar kültürlerinden izole edilen başlıca *Candida*; *C. albicans* %45,9 iken, BAL kültürlerinin %57,7'sinden, kan kültürlerinin ise %43,3'ünden *C. albicans* izole edilmiştir. Yara sürüntüsü kültürlerinin hepsinden *C. albicans* izole edilmiştir. *C. albicans* kadın hastaların %51,6'sında, erkek hastaların %45,5'inde; *C. tropicalis* kadın hastaların %27,8'inde, erkek hastaların %36,9'unda izlenmiştir.

Sonuç: Yoğun Bakım Ünitelerinde karşılaşılan *Candida* enfeksiyonlarının en sık nedenleri *C. albicans* iken, nonalbicans türlerinin toplamı *C. albicans*'dan fazla tespit edildi. Nonalbicans *Candida* türleri içinde en sık izole edilen tür ise *C. tropicalis* olmuştur. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda *Candida* enfeksiyonlarının tür dağılımının belirlenmesi hem ampirik antifungal tedavinin planlanmasına hem de seçilecek tedavi protokolü ile mortalite ve morbiditenin azalmasına katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Yoğun bakım ünitesi, *Candida* türleri, *C. albicans*

using the Phoenix automated identification system (BD, Sparks, USA).

Results: A total of 464 *Candida* growths were identified. Among these, 49.1% were *C. albicans* and 50.9% were non-albicans *Candida*. Of the non-albicans *Candida*, 31.5% were *C. tropicalis*, 10.3% were *C. parapsiosis* and 9.1% were *C. glabrata*. While *C. albicans* was the main *Candida* isolated from urine cultures (45.9%), *C. albicans* was isolated from 57.7% of BAL cultures and 43.3% of blood cultures. *C. albicans* was isolated from all wound swab cultures. *C. albicans* was isolated in 51.6% of female patients and 45.5% of male patients; *C. tropicalis* was isolated in 27.8% of female patients and 36.9% of male patients.

Conclusion: While *C. albicans* was the most common cause of *Candida* infections encountered in Intensive Care Units, the total number of nonalbicans species was higher than *C. albicans*. The most frequently isolated nonalbicans *Candida* species was *C. tropicalis*. We think that determining the species distribution of *Candida* infections in patients hospitalized in intensive care units will contribute to both the planning of empirical antifungal treatment and the reduction of mortality and morbidity with the selected treatment protocol.

Key Words: Intensive care unit, *Candida* species, *C. albicans*

GİRİŞ

Yoğun Bakım Üniteleri (YBÜ)'nde hayatı tehdit eden enfeksiyon etkenlerinden biri de *Candida* türleridir (1). *C. albicans*, *Candida* türleri içinde ilk sırada yer almasına rağmen son yıllarda diğer *Candida* türlerinin sıklığında artış karşımıza çıkmaktadır. *C. glabrata* ve *C. krusei* enfeksiyonları bu kandidiyazlar arasında sıklıkla bildirilmektedir (2). *Candida*'lar insan deri ve mukozasının normal flora üyesi olmasına

rağmen uzun hastane yatış süreleri, diabetes mellitus, hipertansiyon gibi ek hastalıklar, yaralar, üriner ya da santral kateterizasyonlar, steroid kullanımı gibi nedenlerden dolayı *Candida* kolonizasyonu oluşmaktadır (3). Yapılan çalışmalar, YBÜ'de takip edilen hastaların yaklaşık %90'ının *Candida* türleri ile kolonize olduğunu göstermektedir. Hasta yatış süresinin kliniklere bağlı farklılık arz etmesi ve klinisyenlerin farklı tedavi protokolleri hastanelerde izole edilen *Candida* türlerinin bölgesel değişiklikler

göstermesine neden olabilmektedir. İnvaziv *Candida* enfeksiyonları coğrafi bölgelerde ve zamanlarda farklılıklar göstermektedir. Bu sebeple *Candida*'ların epidemiyolojisini bilmek enfeksiyonların yönetimini sağlamak açısından önem taşımaktadır.

Candida enfeksiyonlarını mortal seyirli olmakla birlikte tanısı ve tedavisi maliyetli ve zordur. Uygun antifungal tedavinin en hızlı biçimde başlanması için etkenin doğru tanımlanması ve duyarlılığın bildirilmesi büyük önem arz etmektedir. *Candida* cinsi mayaların tür düzeyinde tanımlanmaları için germ tüp testi, karbonhidrat asimilasyon testleri uygulanmalı ve mısır unu-tween 80 agarda morfolojik özelliklerine bakılmalıdır (4).

Bu çalışmada Mayıs 2021- Ağustos 2023 tarihleri arasında Mikrobiyoloji laboratuvarına YBÜ'lerinden gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida* türlerinin dağılımının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada 2021 01 Mayıs - 30 2023 Ağustos tarihleri arasında YBÜ'lerinde yatan hastaların kültür örneklerinden izole edilen *Candida* türleri retrospektif olarak incelenmiştir. ≥ 50.000 CFU/ml olan üremeler anlamlı olarak kabul edilmiş olup, toplam 464 numune çalışmaya dâhil edilmiştir. *Candida* harici üremeler ve üçten fazla cinste mikroorganizma üremeleri çalışmaya dahil edilmemiştir. Kan örnekleri pediatrik hastalar için BACTEC Peds Plus, erişkin hastalar için BACTEC Plus aerobik besiyeri şişelerine ekilerek otomatize kan kültür sistemi cihazında (BACTEC 9120, ABD) 5 gün inkübe edilmiştir. Bu süre içerisinde pozitif sinyal veren kan kültürü örneklerinden Gram boyama yapılmış ve %5 koyun kanlı agar ve Eosine Methylene Blue (EMB) agara ekim yapılarak 24-48 saat 37°C'de inkübe edilmiştir. Diğer klinik örnekler koyun kanlı agar ve EMB agar besiyerlerine ekilmiştir. Besiyerlerine yapılan ekimler 24 saat sonra değerlendirilmiştir. Orta akım idrarı ve idrar torbası ile alınan örneklerde ≥ 50.000 CFU/ml üremeler pozitif kabul edilmiştir.

Kan kültür şişelerinde ve besiyerlerinde üreyen mikroorganizmaların tanımlanması Phoenix otomatize identifikasyon sistemi (BD, Sparks, ABD) ile yapılmıştır. Kültürlerde üreyen kolonilerden Gram boyama yapılarak morfolojileri değerlendirilmiştir. Yine kültürde üreyen maya kolonileri, steril şartlarda kan alınıp hazırlanan insan serumuna inoküle edilip 37°C'de inkübe edilmiştir. Serumlar 2 saat inkübasyon sonrası lam-lamel arası 40X'lık objektif ile germ tüp oluşumu açısından incelenmiştir. Blastospordan boğum yapmadan boru şeklinde uzayan ve blastosporun 2-3 katı uzunluğu olan yapılar germ tüp pozitif olarak değerlendirilmiştir. Hastaların numunelerinde birden fazla sayıda aynı etken üremesi saptanmışsa tek üreme olarak değerlendirilmiştir.

Bu çalışma, Ordu Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirilmiştir (Tarih:29.09.2023, Karar no: 2023/248).

BULGULAR

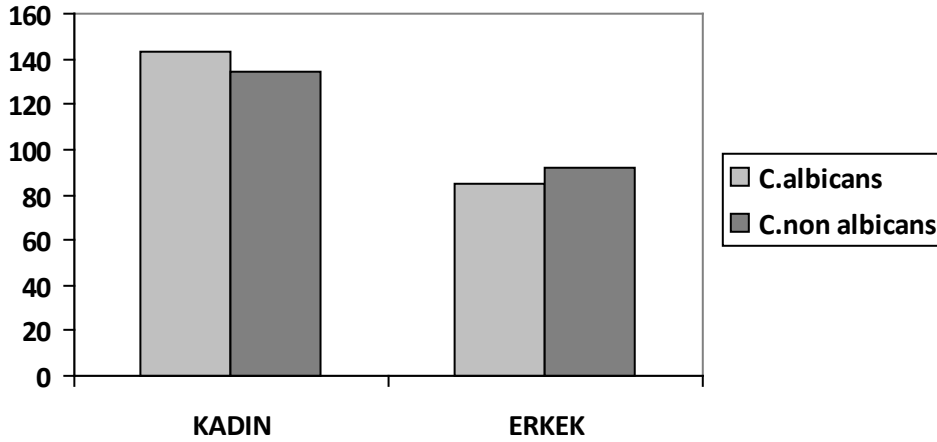
Çalışmamızda yoğun bakım ünitelerinde yatan ve kültürlerinde üreme olan 3531 hastanın 464 (%13,1)'ünde *Candida* türü maya üremesi saptanmıştır. Suşların izole edildiği hastaların 277 (%59,7)'si kadın, 187 (%40,3)'si erkek olarak tespit edilmiştir. Hastaların % 96,6 (448)'si erişkin, %3,4 (16)'ü pediatrik yaş grubundadır. Hastaların %49,1'i *C. albicans*, %50,9'u ise non-albicans *Candida* olarak tespit edilmiştir. Non-albicans *Candida*'ların %31,5'i *C. tropicalis*, %10,3'ü *C. parapsilosis* ve %9,1'i *C. glabrata*'dır. *C. albicans* saptanan hastaların %62,7'si kadinken; non-albicans saptanan *Candida*'ların %56,8'i kadındır (Şekil 1). Pediatrik yaş grubunda (n:7) ve erişkin yaş grubunda (n:221) en sık *C. albicans* izole edilmiştir.

Kadın hastaların %51,6'sında *C. albicans*, %27,8'inde *C. tropicalis* izlenmiştir. Erkek hastaların %45,5'inde *C. albicans*, 2. sıklıkta ise % 36,9 *C. tropicalis* izlenmiştir.

Örneklerin büyük kısmını (%59,1) idrar numuneleri oluşturmaktadır. İdrar kültüründen izole edilen başlıca

Candida türleri; *C. albicans* (%45,9), *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* idi. Yara sürüntüsü kültürlerinin hepsinden *C. albicans* izole edilmiştir. BronkaAlveolar

Lavaj (BAL) kültürlerinin %57,7'sinden *C. albicans* izole edilirken, kan kültürlerinin ise %43,3'ünden *C. albicans* izole edilmiştir (Tablo 1).



Şekil 1. Cinsiyete göre izolat dağılımı

Tablo 1. İzolatların numune türüne göre dağılımı

	Kan		İdrar		BAL		Yara		Toplam	
	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n
<i>C.albicans</i>	43.3	42	45.9	126	57.7	45	100	15	49.1	228
<i>C.tropicalis</i>	24.8	24	34	93	37.2	29	-	-	31.5	146
<i>C.parapsilosis</i>	20.6	20	10.2	28	-	-	-	-	10.3	48
<i>C.glabrata</i>	11.3	11	9.9	27	5.1	4	-	-	9.1	42
Total		97		274		78		15		464

TARTIŞMA

Son yıllarda, literatürde yayınlanan birçok çalışmada hastanelerde kandideminin insidansının arttığı bildirilmiştir. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalar, uygulanan invaziv girişimler, uzun süreli hastane yatışları, geniş

spektrumlu antibiyotik ve steroidlerin kullanılması, santral venöz kateter ve üriner kateterizasyon gibi nedenlerle *Candida* enfeksiyonlarına yatkınlık göstermektedirler (5-9). Gastrointestinal ve alt genital sistemin endojen bakteriyel florası geniş spektrumlu antibiyotik kullanılması sonucunda baskılanmakta ve *Candida* kolonizasyonu ortaya

çıkmaktadır (10). Charles ve ark. (11), antibiyotik kullanımının azaltılarak YBÜ’nde yatan hastalarda invazif kandidiyaz gelişiminin önlenebileceğini vurgulamışlardır. Kritik hastalarda ampirik veya önleyici stratejiler için antifungalların uygulanması azollere ve/veya ekinokandinlere dirençli *Candida* spp.’nin ortaya çıkmasına neden olmuştur (12,13).

Çalışmamızda literatürdeki diğer çalışmalarla benzer şekilde *C. albicans* halen tüm klinik örneklerden en sık izole edilen *Candida* türleri arasında ilk sırayı almaktadır. Biz çalışmamızda pediatrik yaş grubunun %43,8’inde, erişkin yaş grubunun ise %49,3’ünde *C. albicans* türüne ait üremeler bulduk. Çalışmamızda yine literatürdeki çalışmalara benzer olarak non albicans *Candida* türlerinden de en sık olarak *C. tropicalis* izole edilmiştir. Massou ve ark.nın (14) çalışmasında, YBÜ’nde yatan hastalardan *C. albicans* %25,6, *C. tropicalis* %17 ve *C. glabrata* %11,5 olarak izole edilmiştir. Wang ve ark.nın (15) toplam 115 yoğun bakım hastasında yaptığı çalışmada ise özellikle *C. albicans*, invaziv *Candida* enfeksiyonları olan yoğun bakım hastalarından baskın olan tür olarak izole edilmiş; nonalbicans kandidide etken olarak *C. glabrata* ve *C. tropicalis* ana patojen olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda *Candida* üremesi saptanan 464 kültür örneğinin 274 (%59,1)’ü idrar, 97 (%20,9)’si kan, 78 (%16,8)’i BAL ve 15 (%3,2)’i yara sürüntüsü örneklerinden oluşmaktadır. Tüm örnek türlerinde en sık izole edilen *C. albicans*, solunum ve idrar örneklerinde ikinci sıklıkta *C. tropicalis*, kan örneğinde ise *C. parapsilosis* olarak saptanmıştır.

Yoğun bakım ünitelerinde invaziv *Candida* enfeksiyonları önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olmaya devam etmektedir (16). 2010-2011 yılları arasında İspanya’da yapılan prospektif ve çok merkezli bir çalışma (CANDIPOP projesi) sonuçlarına göre; kandida enfeksiyonlarının cerrahi servislere daha çok gözlendiği tespit edilmiştir. Kandideminin diğer servislere kıyasla cerrahi servislere daha çok gözlendiği santral venöz katater ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmaya göre kandidemi tespit edilen hastalarda

enfeksiyonun tespitinden sonra 48 saat içinde kateterin çıkarılmasının iyileşmeyi hızlandırdığına dikkat çekilmiştir (17).

İtalya’da yapılan bir çalışmada kan kültürlerinde saptanan *Candida* türleri’nin %48’i *C. albicans*, %23’ü *C. parapsilosis* olarak bulunmuşken, Güney Kore’de yapılan çalışmada *C. albicans* %38, *C. parapsilosis* %26, *C. tropicalis* %20 olarak tespit edilmiştir (6,18). Bizim çalışmamızda da kan kültürlerinden en sık izole edilen *Candida* türü %43,3 ile *C. albicans*’tır.

Ülkemizde yapılan bir çok çalışmada *C. albicans* ilk sırada izole edilirken *C. parapsilosis* nonalbicans *Candida*lar içinde ilk sırayı almaktadır (19-21). Pelit ve Uzun (22) yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan izole edilen 121 *Candida* suşunun %49,6’sını *C. albicans*, %17,3’ünü *C. tropicalis*, %14’ünü *C. parapsilosis*, %12,4’ünü *C. glabrata* olarak rapor etmişlerdir. Sav ve ark. (23), ise çalışmamızdan farklı olarak *C. glabrata*’yı nonalbicans *Candida* türlerinde en sık izole etmişlerdir.

Kandidemilerinin çoğu YBÜ’lerinde gelişir ve özellikle non-albicans kandidemi sıklığında son yirmi yılda artış olduğu görülmüştür. *C. albicans*’tan sonra *C. parapsilosis* mantar enfeksiyonlarının en yaygın nedeni olarak bildirilmiştir. *C. parapsilosis* Asya, Güney Afrika ve Latin Amerika’da ikinci en sık izole edilen *Candida* enfeksiyonu etkenidir (24). *C. parapsilosis*’in nozokomiyal enfeksiyona yol açmasının nedeni olarak el florasında yer alması ve biyofilm tabakası oluşturması sonucu tıbbi aletlere kolayca tutunması söylenebilmektedir. Dolayısıyla, *C. parapsilosis* enfeksiyonu non-albicans *Candida* türleri arasında en sık karşımıza çıkmakta ve önlenmesinde el hijyeni önemli bir rol oynamaktadır (25). Ülkemizde Oktay ve ark.nın (26) 2015 yılında yaptıkları bir çalışmada yoğun bakım ünitelerinde *C. parapsilosis* en yüksek oranda saptanmıştır. Bu çalışmada yoğun bakım ünitelerinde *C. parapsilosis*’in, *C. albicans*’dan daha sık tespit edilmesinin sebebi olarak; hastalar ve sağlık personeli sebebiyle hastaların hastane içi transferleri sonucu çapraz bulaşların olması olarak düşünülmüştür. 2009-2019 CDC verilerine göre sağlık

bakımıyla ilişkili kandidemi olgularında *C. albicans* sıklığı değişmezken, *C. glabrata* sıklığında artış, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis* sıklığında azalma saptanmıştır. Bizim çalışmamızda olduğu gibi CDC'ye göre de *C. parapsilosis*, 3. en sık izole edilen *Candida* türü olarak saptanmıştır (27).

Yoğun bakımda yatan nütropenik olmayan hastaların dahil edildiği bir yıllık dönemi kapsayan çalışmada ise; *C. albicans* %58,6, *C. glabrata* %20,7 *C. tropicalis* %6,9, *C. parapsilosis* %6,9 olarak dağıldığı tespit edilmiştir (28).

Araştırmanın retrospektif ve tek merkezli bir

çalışma olması en önemli kısıtlılığdır. Daha uzun bir zaman aralığındaki sonuçların analizi, yıllar içerisindeki epidemiyolojik değişimleri göstermek açısından daha güvenilir olabilir.

Sonuç olarak çalışmamızda yoğun bakım ünitelerinde en sık *C. albicans* görülmüş olup, en sık idrar örneklerinde tespit edilmiştir. Yara kültürlerinde sadece *C. albicans* saptanmış olup kadınlarda sık tespit edilmiştir. Hastanemizde en sık saptanan etken epidemiyolojik verilerle de uyumlu olarak *C. albicans* olup, bu veriler antifungal tedaviye başlanması için yol gösterici olmuştur.

ETİK KURUL ONAYI

* Bu çalışma, Ordu Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirilmiştir (Tarih:29.09.2023, Karar no: 2023/248).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Ascioglu S, Rex JH, De Pauw B. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Prob Med Mycol*, 2003;5(1):10-6.
2. Tümtürk A. Yoğun Bakım Hastalarında Görülen Kandidemide Tür Dağılımı ve Antifungal İlaçlara Karşı Direnç Gelişimi: Tek Merkez Deneyimi. *Med Sci*, 2020;15(1), 26-34.
3. Gokahmetoglu G, Mutlu Sargüzel F, Koç A. Determination of Candida colonization and Candida score in patients in anesthesia intensive care unit. *Mikrobiyol Bul*, 2016;50(3).
4. Şahin E, Kalkancı A. Kan Kültürlerinde Candida Türlerinin Üreme Süreleri ve Bu Sürenin Kısıtılmasına Yönelik Yaklaşımlar. *Flora Infeksi Hast Klin Mikrobiyol Derg*, 2022;27(2).
5. Akalın H. Kandidemilerde risk faktörleri ve risk değerlendirmesi. *Ankem Derg*, 2008;22(2):270-4.
6. Çalışkan E, Dede A, Güven GB. Kan kültürlerinde saptanan candida türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları. *ANKEM Derg*, 2013;27(1):25-30.
7. Sader HS, Farrell DJ, Flamm RK. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative organisms isolated from patients hospitalized in intensive care units in United States and European hospitals (2009-2011). *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2014;78(4):443-8.
8. Şirin MC, Neval A, Yılmaz N. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2017;74(4):269-78.
9. Yapar N. Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. *Ther Clin Risk Manag*, 2014;95-105.
10. Passos XS, Sales WS, Maciel PJ. Candida colonization in intensive care unit patients' urine. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2005;100:925-8.
11. Charles PE, Dalle F, Aube H. Candida spp. colonization significance in critically ill medical patients: a prospective study. *Intensive Care Med*, 2005;31:393-400.
12. Arendrup MC, Dzajic E, Jensen RH. Epidemiological changes with potential implication for antifungal prescription recommendations for fungaemia: data from a nationwide fungaemia surveillance programme. *Clin Microbiol Infect*, 2013;19(8):e343-53.
13. Shields RK, Nguyen MH, Clancy CJ. Clinical perspectives on echinocandin resistance among Candida species. *Curr Opin Infect Dis*, 2015;28(6):514.
14. Massou S, Ahid S, Azendour H. Systemic candidiasis in medical intensive care unit: analysis of risk factors and the contribution of colonization index. *Pathol Biol (Paris)*, 2012;61(3):108-12.
15. Wang B, He X, Lu F. Candida isolates from blood and other normally sterile foci from ICU patients: determination of epidemiology, antifungal susceptibility profile and evaluation of associated risk factors. *Front Public Health*, 2021;9:779590.
16. De Pascale G, Tumbarello M. Fungal infections in the ICU: advances in treatment and diagnosis. *Curr Opin Crit Care*, 2015;21(5):421-9.
17. Vena A, Bouza E, Valerio M. Candidemia in non-ICU surgical wards: comparison with medical wards. *PLoS One*, 2017;12(10):e0185339.
18. Grandesso S, Sapino B, Mazzuccato S. Study on in vitro susceptibility of Candida spp. isolated from blood culture. *Infez Med*, 2012;20(1):25-30.
19. Bakir M, Cerikcioglu N, Barton R. Epidemiology of candidemia in a Turkish tertiary care hospital. *Apmis*, 2006;114(9):601-10.

20. Gültekin B, Eyigör M, Telli M. Yedi yıllık dönemde kan kültürlerinden izole edilen Candida türlerinin retrospektif olarak incelenmesi. *Ankem Derg*, 2010;24(4):202-8.
21. Öztürk T, Özseven AG, Çetin ES. Kan kültürlerinden izole edilen Candida suşlarının tiplendirilmesi ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması. *Kocatepe Tıp Derg*, 2013;14(1):17-22.
22. Pelit S, Uzun M. Yoğun Bakım Ünitelerinde Yatan Hastalara ait Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Candida Suşlarında Tür Dağılımının ve Antifungal Duyarlılıkların Araştırılması. *Dah Cer Yogan Bakim Derg*, 2016;7(2):49.
23. Sav H, Demir G, Atalay MA. Klinik örneklerden izole edilen Candida türlerinin değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2013;70(4):175-80.
24. Tigen ET, Bilgin H, Gurun HP. Risk factors, characteristics, and outcomes of candidemia in an adult intensive care unit in Turkey. *Am J Infect Control*, 2017;45(6):e61-3.
25. Lin CC, Liu CP, Hsieh FC. Antimicrobial susceptibility and clinical outcomes of Candida parapsilosis bloodstream infections in a tertiary teaching hospital in Northern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect*, 2015;48(5):552-8.
26. Oktay E, Gülbudak H, Özgür D. Yoğun Bakım Ünitesi Hastaları Kan Kültürlerinden İzole Edilen Candida parapsilosis Suşlarının Mini Epidemiler Bakımından Araştırılması. 2015; 45(1):41-7.
27. Healthcare-Associated Infections (HAIs). <https://www.cdc.gov/healthcare-associated-infections/php/haic-eip/haicviz.html> (Erişim Tarihi:24.10.2024).
28. Sarı S, Cankar Dal Mİ, Tezcan B. Yoğun Bakım Ünitelerinde Gelişen, Non-nötropenik Kandidemi Olgularının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. *Yoğun Bakım Derg*, 2018;9(3):74-7.

Brucellosis seropositivity in Ağrı Training and Research Hospital: Rose Bengal and serum tube agglutination test results

Ağrı Eğitim ve Araştırma Hastanesinde bruselloz seropozitifliği: Rose Bengal ve serum tüp aglütinasyon test sonuçları

Neşe İNAL¹ (ID), Ülkü Zeynep ÜREYEN ESERTAŞ² (ID), Funda ÇİMEN AÇIKGÜL² (ID)

ABSTRACT

Objective: Brucellosis is a zoonotic infection that is transmitted from infected animals to humans through the consumption of food products (such as unpasteurized dairy products) or direct contact with tissues or body fluids. It is the most common zoonosis worldwide and is a major public health problem in many developing countries. Knowledge of brucellosis seropositivity and geographic distribution is of great importance for the control of the disease. Thus, it was aimed to examine the Rose-Bengal test (RBT) results and serum tube agglutination (STA) test titers from the serum samples sent to the microbiology laboratory with a preliminary diagnosis of brucellosis and to investigate the seropositivity of brucellosis in our region.

Methods: Between 1 January 2020 and 31 December 2023, 13.588 serum samples sent to the medical microbiology laboratory with preliminary diagnosis of brucellosis from various outpatient clinics or services of Ağrı Training and Research Hospital were included. The results of these samples were obtained from laboratory information management system retrospectively. RBT

ÖZET

Amaç: Bruselloz, enfekte hayvanlardan insanlara gıda ürünlerinin (pastörize edilmemiş süt ürünleri gibi) tüketilmesi veya doku, vücut sıvıları ile temas yoluyla bulaşan zoonotik bir enfeksiyondur. Tüm dünyada en sık görülen zoonozdur ve gelişmekte olan birçok ülkede önemli bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedir. Bruselloz seropozitifliği ve coğrafi dağılımının bilinmesi hastalığın kontrolü için büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle bruselloz ön tanısı ile mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen serum örneklerinden Rose-Bengal testi (RBT) sonuçları ve serum tüp aglütinasyon (STA) test titrelerinin incelenmesi ve bölgemizde brusellozun seropozitifliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: 1 Ocak 2020 ve 31 Aralık 2023 tarihleri arasında Ağrı Eğitim Araştırma Hastanesi'ne bağlı çeşitli poliklinik veya servislerinden, bruselloz ön tanısı ile tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen 13.588 serum örneği dahil edilmiştir. Bu örneklerle ait sonuçlar retrospektif olarak laboratuvar bilgi yönetim sisteminden elde edilmiştir. Çalışmada RBT antijeni (THSK, Türkiye)

¹Ağrı Training and Research Hospital, Medical Microbiology Laboratory, Ağrı, Türkiye
²Ağrı İbrahim Çeçen University, Department of Medical Microbiology, Ağrı, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Neşe İNAL

Ağrı Eğitim Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ağrı - Türkiye

E-posta / E-mail : nese-inal-108@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 04.02.2024

Kabul Tarihi / Accepted : 12.08.2024

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2025.54514

Inal N, Üreyen Esertaş ÜZ, Çimen Açıkgül F. Brucellosis seropositivity in Ağrı Training and Research Hospital: Rose Bengal and serum tube agglutination test results. Türk Hij Den Biyol Derg, 2025; 82(2): 275 - 280

antigen (THSK, Türkiye) and STA standardized suspension of *B. abortus* S99 dead strain (THSK, Türkiye) were used in the study.

Results: A total of 13.588 blood samples with a preliminary diagnosis of brucellosis included in our study. RBT seropositivity was found to be 12.3% (n: 1676). STA was applied to the sample of patients who were RBT positive. In serum agglutination test, brucellosis seropositivity was 4.2% (n: 575) at <1/160 titer and 5.5% (n: 750) at ≥1/160 titer. According to investigated by years, it has been determined that the rate of seropositivity decreased in 2023 years.

Conclusion: In conclusion, a high rate of brucellosis seropositivity was detected in our region. Brucellosis remains an important public health problem in the Eastern Anatolia region. Serological test results contribute to the development of regional epidemiological data and to increase measures. It is important to inform people about brucellosis infection and transmission. Clinicians in our hospital should consider brucellosis in the differential diagnosis.

Key Words: Brucellosis, tube agglutination, Rose-Bengal

ve STA testi için *B. abortus* S99 ölü süşunun standardize süspansiyonu (THSK, Türkiye) kullanılmıştır.

Bulgular: Çalışmamıza brucelloz ön tanısı alan 13.588 hastadan alınan kan örneği dahil edilmiştir. RBT seropozitifliği %12.3 (n: 1676) olarak bulunmuştur. RBT pozitif olan hastaların örnekleme STA uygulanmıştır. Serum aglütinasyon testinde <1/160 titrede %4.2 (n: 575), ≥1/160 titrede ise %5.5 (n: 750) oranında brucelloz seropozitifliği saptanmıştır. Yıllara göre incelendiğinde 2023 yılında seropozitiflik oranının azaldığı tespit edilmiştir.

Sonuç: Sonuç olarak, bölgemizde brucelloz seropozitifliği yüksek oranda saptanmıştır. Brucelloz, Doğu Anadolu bölgesinde önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Bu nedenle elde edilen serolojik test sonuçları bölgesel epidemiyolojik verilerin oluşturulmasına ve brucelloz bulaşı açısından önlemlerin artırılmasına katkı sağlayacaktır. Brucelloz enfeksiyonu ve bulaş yolları hakkında halkın bilgilendirilmesi önemlidir. Hastanemizde ayırıcı tanıda klinisyenler brucellozu göz önünde bulundurmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Brucelloz, tüp aglütinasyon, Rose-Bengal

INTRODUCTION

Brucellosis is one of the most common zoonoses transmitted from animals, and in endemic areas and brucellosis poses a serious public health problem. *Brucella* species is a bacterial disease that often infects cattle, pigs, goats, sheep and dogs (1). Humans usually transmit the disease through direct contact with tissues or body fluids from infected animals, or indirectly through the consumption of contaminated animal products or inhalation. It is caused by the consumption of unpasteurized milk or dairy products from infected goats or sheep frequently.

Worldwide, it is considered a serious public health threat, with approximately 500,000 new cases of brucellosis per year (2). The Mediterranean Basin, South and Central America, Eastern Europe, Asia, Africa, the Caribbean, and the Middle East are among the high-risk areas. Those who travel to these areas and especially some occupational groups (veterinarians, hunters, laboratory workers) are at risk. In our country, brucellosis is endemic in the Eastern and Southeastern Anatolia regions where animal husbandry is intense.

B. abortus, *B. melitensis*, *B. canis*, *B. suis*, *B. pinnipedialis*, *B. ceti* species are known to cause

disease in humans (3, 4). The gold standard method in the diagnosis of brucellosis is culture. In the serological diagnosis, such as slide agglutination test, standard tube agglutination test, Coombs test, various solid phase methods for the detection of antibodies (ELISA, chemiluminescence, immunochromatography) and tests based on antibody capture (immunocapture) are used for diagnostic purposes (5).

The prerequisite for the continuation of a comprehensive study aimed at combating, preventing and controlling the disease in our country and around the world is epidemiological data, especially on the regional distribution of the disease. Knowledge of brucellosis seropositivity and geographic distribution is of great importance for the control of the disease (6). Therefore, it was aimed to examine the Rose-bengal test (RBT) results and serum tube agglutination (STA) test titers from the serum samples sent to the microbiology laboratory with the suspicion of brucellosis and determine the seropositivity of brucellosis in our region.

MATERIAL and METHOD

Between 1 January 2020 and 31 December 2023 years, a total of 13.588 serum samples were sent to the medical microbiology laboratory with the suspicion of brucellosis from various outpatient clinics or services of Ağrı Training and Research Hospital. These samples were retrospectively evaluated using the laboratory information management system over a four-year period. Demographic characteristics such as applied departments, age, gender were evaluated.

In the study, blood samples were centrifuged at 3000 g for 10 minutes. One drop (50 µL) of serum was placed into a circle on the test card. One drop of positive control serum and one drop of negative control serum were dispensed into two additional circles. Rose Bengal antigen was added one drop (50 µL) of to each circle into the serum. Rose Bengal test antigen (THSK, Türkiye) was mixed with serum and rotate the card for 4 minutes. Samples with

agglutination observed were considered positive.

Serum tube agglutination test was applied to the serum of the patients who were found positive with Rose Bengal test as a screening test. Standardized suspension of *B. abortus* S99 killed strain (THSK, Türkiye) was used in STA test. Dilutions from 1/20 titer to 1/1280 titer were studied with STA test. In the STA test; antigen and serum were incubated in a tube at 37°C for 24 hours. After incubation, visible agglutination at the bottom of the tube was considered a positive result. Titers of 1/160 and above were evaluated as seropositive by STA method.

Descriptive statistical analyses were performed, including frequency (n), percentage (%), mean ($\bar{x}$), median, standard deviation, and minimum and maximum values.

The study was approved by the Ağrı İbrahim Çeçen University Scientific Research Ethics Committee (Date: 28.12.2023 and Number: 325).

RESULTS

Serum samples from 13.588 patients with suspected brucellosis were included in the study. When examined according to the departments, patients applied 53.3% internal medicine, 20.4% infectious diseases and clinical microbiology, 17.3% pediatrics, and 9.0% were patients from other outpatient clinics and services.

In a sample of 13.588 patients with suspected brucellosis, 12.3% (n: 1.676) were found to be RBT positive. STA method was applied to the sera of patients who were RBT positive. Of the 1676 RBT positive cases, 1325 were found to be seropositive with STA. Agglutination was determined in 750 (5.5%) sera positive with STA at $\geq 1/160$ titer and in 575 (4.2%) sera at $< 1/160$ titer. When the distribution of titers according to the serum tube agglutination test was examined, it was found to be positive at a rate of 9.3% at 1/20 titer, 15.6% at 1/40 titer, 18.4% at 1/80 titer, 17.2% at 1/160 titer, 16.4% at 1/320 titer, 12.6% at 1/640 titer, and 10.1% at 1/1280 titer (Figure 1).

When RBT and STA seropositivity are examined by years, in 2020, RBT and STA positivity has been determined 17.0%, 4.8% respectively. In 2021, RBT and STA positivity was found to be 18.7%, 5.8 % respectively. In 2022, RBT and STA positivity has been determined 10.5%, 7.6% respectively. In 2023, RBT and STA positivity has been determined 9.5%, 4.5% respectively (Table 1). It has been determined that the rate of seropositivity decreased in 2023 years.

The average age of patients with positive RBT was 38.7 ± 18.3 years. When the genders of the patients with RBT positive were examined, 52.7% were female and 47.3% were male. The average age of the patients who were found positive at $\geq 1/160$ titer with STA test was 37.8 ± 17.4 years. When the gender distribution of these patients was examined, 46.5% were female and 53.4% were male.

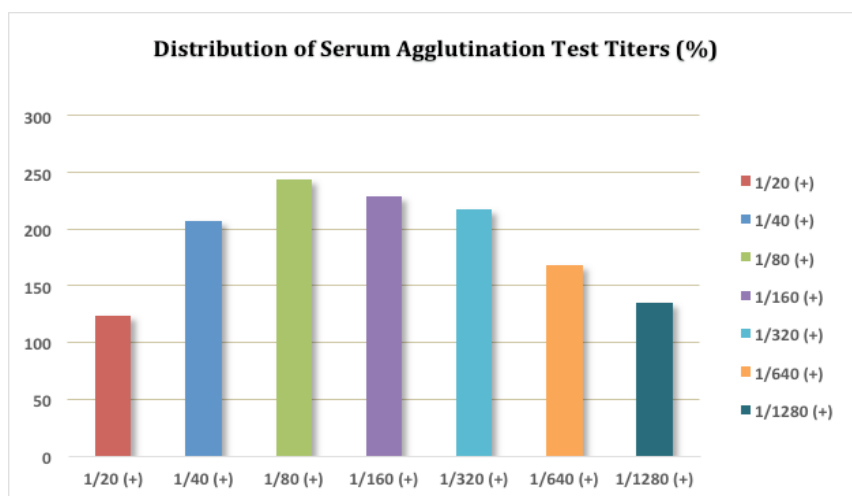


Figure 1. Distribution of serum tube agglutination test titers

Table 1. Rose Bengal test and serum tube agglutination test positivity rates (%) of the patient serums according to years

Years	Participant	Rose Bengal Test n (%)	Serum Tube Agglutination Test (1/160 and above) n (%)
2020	1729	295 (17.0)	84 (4.8)
2021	2342	438 (18.7)	138 (5.8)
2022	3146	332 (10.5)	240 (7.6)
2023	6371	611 (9.5)	288 (4.5)
Total	13.588	1676 (12.3)	750 (5.5)

DISCUSSION

Brucellosis seropositivity was determined high rate in our region. Brucellosis is still important public health problem in our country as well as all over the world. Brucellosis is observed in animals such as goats, sheep, cattle and horses. It is transmitted to humans after contact with

meat, milk or dairy products, urine and pregnancy materials of infected animals. *B. melitensis* is the most common causative agent in our country (7, 8).

The sensitivity of the Rose Bengal test is high in the diagnosis of brucellosis. It is recommended to be used as a rapid diagnostic test in patients with a history of contact and compatible symptoms. In meta-analyses, the specificity of the test was also

found to be high, but it is not appropriate to use it alone in the diagnosis of brucellosis. Since it is an antibody screening test, false-negative results may occur in the early stages of the disease (9). The sensitivity and specificity of STA test have been found to be high for the diagnosis of brucellosis. In cases where early treatment is required or in cases where culture cannot be performed, STA test can be used in rapid diagnosis. In cases where RBT is positive in patients with suspected brucellosis, it should be confirmed by STA test because it is more specific (9).

When brucellosis seropositivity was examined in studies conducted in Eastern Anatolia and Southeastern Anatolia regions, it ranged between 3.1% and 17.0% (8, 10-12). According to the results of our study, the brucellosis seropositivity was found to be 12.3% according to the RBT test in Ağrı. Of the 1676 cases with RBT positive, 1325 were positive by STA. Agglutination was detected in 750 of the sera that were positive with STA at titers of 1/160 and above. According to the STA test, a seropositivity rate of 5.5% was found.

A total of 2942 serum samples taken from patients with suspected brucellosis in Malatya were retrospectively examined for brucellosis by Rose Bengal, STA and Coombs agglutination methods. Rose Bengal test was positive in 8.5% of serum samples. The STA method was applied to those who tested positive for Rose Bengal. Agglutination was detected in 4.5% of serum samples at titers of 1/160 and above by STA. Seropositivity was detected in 5.5% of serum samples by Coombs agglutination test (8).

The brucellosis seroprevalence of 271 participants engaged in animal husbandry in Erzurum was investigated by Rose-Bengal and STA methods. Rose-Bengal slide agglutination test found 17.0% seropositive. STA method was applied to 46 serum samples with positive Rose Bengal test and seropositivity was detected in 10.7% (10).

Between June 2019 and 2021, Rose Bengal and Brucellacapt (Vircell, Spain) test (BCT) was performed for the diagnosis of brucellosis in Van. The Brucellacapt test is a *Brucella* agglutination method with Coombs

based on agglutination that detects all antibodies for the diagnosis of brucellosis. Rose Bengal tested positive in 4.6%. Brucellacapt test revealed that 3.1% were positive (11). In the study in which brucellosis seroprevalence was investigated in Diyarbakır, Rose-Bengal slide agglutination test was applied as a screening test. BCT test was applied to the sera of patients with a positive screening test. A seropositivity rate of 6.5% was detected by RBT in a sample of 5,196 patients with suspected brucellosis evaluated in the study. BCT titer was found to be positive at 1/320 or more in 76.5% of the sera that were RBT positive (12)

In studies conducted in Marmara, Central Anatolia and Black Sea regions, seroprevalence varies between 0.8% and 3.8% (13-15). The seroprevalence of brucellosis in Amasya was examined by Brucellacapt test. As a result of the study, brucellosis seroprevalence was found to be 0.8% (15). A total of 2646 patients were included in the study in which the seroprevalence of brucellosis cases in Samsun was examined. Serum samples of the patients were evaluated with Brucellacapt test. BCT was positive in 3.0% of patients (14). Brucellacapt test was used in the diagnosis of brucellosis infection at Istanbul University Medical Faculty Hospital. Brucellosis seroprevalence was found to be 3.8% (13).

Effective control strategies of brucellosis include different methods such as surveillance, prevention of transmission, and culling of the infection reservoir (16). Vaccination of animals is recommended in endemic areas with high levels of brucellosis. Studies show that when animal brucellosis is controlled, there will be a significant decrease in human brucellosis cases (17).

In conclusion; Brucellosis is common in the Eastern Anatolia region. Therefore, brucellosis continues to be an important public health problem in our region. Serological test results could contribute to the establishment of regional epidemiological data and to increase measures. It is important to inform the people about the brucellosis infection and its transmission. Clinicians should consider brucellosis in the differential diagnosis in our hospital.

ETHICS COMMITTEE APPROVAL

* The study was approved by the Ağrı İbrahim Çeçen University Scientific Research Ethics Committee (Date: 28.12.2023 and Number: 325).

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Bruselloz (Brucellosis); <https://www.seyahatsagligi.gov.tr/site/HastalikDetay/Bruselloz> (Access Date: 02.02.2024).
2. Libera K, Konieczny K, Grabska J, Szopka W, Augustyniak A, Pomorska-Mól M. Selected livestock-associated zoonoses as a growing challenge for public health. *Infect Dis Rep*, 2022;14(1):63-81.
3. Ariza J, Bosilkovski M, Cascio A, Colmenero JD, Corbel MJ, Falagas ME, et al. Perspectives for the treatment of brucellosis in the 21st century: the Ioannina recommendations. *PLOS Med*, 2007;4(12):e317.
4. CDC N. Brucellosis reference guide: Exposures, testing and prevention. US Department of Health and Human Services, CDC Atlanta (GA); 2017.
5. Yagupsky P, Morata P, Colmenero JD. Laboratory diagnosis of human brucellosis. *Clin Microbiol Rev*, 2019;33(1):10.
6. Ran X, Cheng J, Wang M, Chen X, Wang H, Ge Y, et al. Brucellosis seroprevalence in dairy cattle in China during 2008-2018: A systematic review and meta-analysis. *Acta tropica*, 2019;189:117-23.
7. Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human brucellosis. *Lancet Infect Dis*, 2007;7(12):775-86.
8. Duman Y, Tekerekoğlu MS, BATI NS, Barış O. Brucellosis Seroprevalance in İnönü University Medical Faculty Hospital: The Results of Rose Bengal, Wright, Coombs Agglutination Tests. *Med Sci*, 2013;2(3):679-88.
9. Yavuz S, Xu C, Benli A, Ateş C, Aydın M, Aygun G, et al. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Derneği Kanıta Dayalı Bruselloz Tanı ve Tedavi Klinik Uygulama Rehberi, 2023. *Klinik Derg*, 2023;36(2).
10. Mahmut U, Yılmaz A, Çelebi S, Yılmaz S. Seroprevalence of Brucellosis in Individuals Engaged in Animal Husbandry in Erzurum Region. *Genel Tıp Derg*, 33(6):768-74.
11. Aydın E, Dicle Y, Kaçtaş Ş, Gümüş AF. Detection of Human Brucellosis by Brucellacapt and Rose Bengal Test in the Endemic Area. *New Trends in Medicine Sciences*. 2023.
12. Temiz H, Özcan N, Eşref A, Özbek E. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde Bruselloz Seroprevalansı: RoseBengal Testi ve Brucella Coombs Test Sonuçları. *Dicle Tıp Derg*, 2022;49(4):660-6.
13. Ağaçfıdan A. Bir Üniversite Hastanesine Başvuran Hastalarda Brucella Seroprevalansı ve Risk Faktörlerinin Araştırılması. *ANKEM Derg*, 2020;34(2):65-70.
14. Görgün S. Samsun Bölgesindeki Çocuk ve Yetişkinlerde Bruselloz Olgularının Seroprevalansı. *J Immun Clin Microbiol*, 2020;5(3):106-14.
15. Topakbaş B, Memiş A, Karapelit Z, Menekşe E, Sezgin FM, Çetin M. Determination of Brucellosis Seroprevalence and Associated Risk Factors in Amasya Province. *Sabuncuoğlu Serefeddin Health Sci*, 2023;5(3):15-30.
16. Durrani AZ, Usman M, Kazmi Z, Husnain M. Evaluation of therapeutic trials in bovines. New insight into brucella infection and foodborne diseases, *IntechOpen*, UK. 2020:1-5.
17. Seleem MN, Boyle SM, Sriranganathan N. Brucellosis: a re-emerging zoonosis. *Vet Mic*, 2010;140(3-4):392-8.

Borderline over tümörlerinde intraoperatif frozen kesit incelemesinin doğruluğuna etki eden risk faktörleri

Risk factors affecting the accuracy of intraoperative frozen section examination in borderline ovarian tumors

Sevgi AYHAN¹ (ID), Zehra ÖZTÜRK BAŞARIR¹ (ID), Filiz YILDIRIM² (ID),
Şeyma Banu ARSLANCA³ (ID), İrem KAR⁴ (ID)

ÖZET

Amaç: Düşük malignite potansiyeline sahip bir over tümörü olan, borderline over tümörü (BOT), tüm over malignitelerinin % 10-20'sini oluşturur. BOT'nin ameliyat öncesi tanısını koymak genellikle zordur; bu nedenle tanı çoğunlukla cerrahi sırasında yapılan frozen inceleme veya operasyon sonrası over dokusunun histopatolojik değerlendirilmesiyle konulmaktadır. Bu çalışmada BOT'nin frozen inceleme sonuçlarının doğruluk oranını retrospektif olarak tek merkezde değerlendirmeyi amaçladık.

Yöntem: 01.01.2003- 01.07.2019 tarihleri arasında kalıcı patoloji tanısı BOT olarak raporlanan 232 hastanın frozen inceleme sonuçları analiz edildi. Frozen inceleme sonuçları; benign, BOT, en az BOT olmak üzere kategorize edildi. Hastaların yaşı, menopoz durumu, tümör tipi, tümör bilateralitesi, tümör boyutu, tümör evresi preoperatif kanser antijen-125 (CA-125) U/ml, preoperatif karbonhidrat antijen 19-9 (CA 19-9) U/ml düzeyi kaydedildi. Frozen tanıların doğruluk oranı ve etki eden risk faktörleri analiz edildi. Cerrahi prosedür olarak unilateral salpingo-oforektomi, total

ABSTRACT

Objective: Borderline ovarian tumor (BOT), known as ovarian tumor with low malignant potential, constitutes 10-20% of all ovarian malignancies. It is frequently possible to diagnose BOT before surgery, it is often diagnosed by frozen examination during surgery or by histological examination of the ovarian tissue after the operation. In this study, we aimed to retrospectively evaluate the accuracy rate of frozen examination results of BOT in a single center.

Methods: All final pathology result diagnoses of patients who received BOT between 01.01.2003 and 01.07.2019 were analyzed. Frozen examination results; they were categorized as benign, BOT, at least BOT. The age of the patients, menopausal status, tumor type, tumor bilaterality, tumor size, tumor stage, preoperative cancer antigen-125 (CA-125) U/ml, preoperative carbohydrate antigen 19-9 (CA 19-9) U/ml levels were recorded. The accuracy rate and effect on risk factors of each frozen section diagnosis were analyzed. As surgical procedures, unilateral salpingo-oophorectomy, total

¹Ankara Şehir Hastanesi, Jinekolojik Onkoloji Cerrahi Bölümü, Ankara, Türkiye

²Polatlı Duatepe Devlet Hastanesi, İç Hastalıklar Kliniği, Ankara, Türkiye

³Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları EAH, Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü, Ankara, Türkiye

⁴Ankara Üniversitesi, Biyoistatistik AD., Tıp Fakültesi, Ankara, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Filiz YILDIRIM

Polatlı Duatepe Devlet Hastanesi, İç Hastalıklar Kliniği, Ankara - Türkiye

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

Geliş Tarihi / Received : 19.10.2023

Kabul Tarihi / Accepted : 19.12.2024

histerektomi ve bilateral salpingo-oferektomi, periton sitolojisi, multipl periton biyopsileri, apandektomi, infrakolik omentektomi ve/veya lenf nodu diseksiyonu (örnekleme/sistemik) hastanın yaşına, fertilité isteğine göre uygulandı. Fertilitésinin korunmasını isteyen hastalara ve genç yaş grubundaki hastalara konservatif cerrahi tercih edildi.

Bulgular: Tüm hastaların frozen tanılarının doğruluk değeri % 93.7 olarak bulundu. Seröz BOT için % 98.1, müsinöz BOT için % 83.7 frozen tanıları doğruluk oranı saptandı. Hastaların frozen inceleme sonuçları ile kalıcı patoloji sonuçlarının uyumsuz saptanması için, müsinöz histoloji ($p<0.001$) ve preoperatif CA 19-9 U/ ml düzeyi ($p=0.002$) ve tümörün bilateralite olması ($p<0.001$) risk faktörü olarak saptandı. Çalışmamızda CA 19-9 düzeyi düşük olan bireylerin uyumsuz bir patolojiye sahip olma olasılığı CA 19-9 düzeyi yüksek olanlara göre 6.06 kat daha fazla saptandı.

Sonuç: İntraoperatif olarak BOT tanısının frozen inceleme ile doğru tanı konulması, hastaya uygulanacak cerrahi işlemi yönlendirmesinde oldukça önemlidir. Çalışmamızda; tümörün bilateral olması, müsinöz histoloji ve preoperatif CA 19-9 düzeyi yüksekliği olan hastalarda frozen inceleme sonuçlarının tanı doğruluk oranı düşüktür.

Anahtar Kelimeler: Borderline over tümörü, konservatif cerrahi, frozen inceleme, kalıcı patoloji

hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy, peritoneal cytology, multiple peritoneal biopsies, appendectomy, infracolic omentectomy and/or lymph node dissection (sampling/systematic) were performed according to the patient's age and fertility request. Conservative surgery was preferred for patients who wanted fertility and were in the young age group.

Results: The accuracy value of frozen diagnosis of all patients was found to be 93.7%. The accuracy rate of frozen diagnosis results was 98.1% for serous BOT and 83.7% for mucinous BOT. Mucinous histology ($p<0.001$), preoperative CA 19-9 U/ml level ($p=0.002$) and bilaterality of the tumor ($p<0.001$) were found to be risk factors for determining the patients' frozen examination results and permanent pathology results to be incompatible. In our study, individuals with low CA 19-9 levels were found to be 6.06 times more likely to have an incompatible pathology than those with high CA 19-9 levels.

Conclusion: The accurate diagnosis of BOT intraoperative frozen examination is very important in determining the extent of the surgical procedure. In our study, the diagnostic accuracy of frozen examination results is low in patients with bilateral tumors, mucinous histology, and high preoperative CA 19-9 levels.

Key Words: Borderline ovarian tumor, conservative surgery, frozen examination, permanent pathology

GİRİŞ

Frozen inceleme intraoperatif olarak çıkarılan dokuya tanı koymak için kullanılan bir hızlı tanı koyma prosedürüdür (1). Frozen sonuçlarının patolojik tarafından doğru değerlendirilmesi, over kitlelerin benign, borderline ve malign ayırımında ve cerrahi işlemin genişliğine karar verilmesinde en önemli basamaktır (2). Borderline over tümörü (BOT), düşük büyüme potansiyeli ve belirsiz davranışları nedeniyle benign ile malign kategorisinde açıkça

sınıflandırılmayan over epitelyal tümörleridir ve over tümörlerinin % 10-20'sini oluşturur (3).

BOT, atipik proliferatif hücreler içermelerine rağmen belirgin stromal invazyon göstermemeleriyle karakterizedir. Fakat birkaç odakta stromaya mikro invazyon (<5 mm) yapabilme özelliği gösterebilirler (4). Bu tümörler epitelyal over kanserlerinden daha iyi klinik seyir gösterirler ve sıklıkla erken evrede tanı alırlar (5). BOT hastalarının yaklaşık üçte biri 40 yaş altında, reprodüktif çağda tanı alırlar (6). Over tümörlerinde tanının konulması ve cerrahinin

genişliğine karar vermek açısından frozen incelemenin doğru yapılması önemlidir (2).

Frozen inceleme sonuçlarının over tümörlerindeki sensitivite oranı % 65-97, spesifisite oranı % 97-100 olarak belirtilmektedir (7). Frozen sonuçları intraoperatif olarak doğru olarak raporlanmadığı zaman hastalarda yapılan fazla geniş cerrahiye bağlı olarak genç hastalarda fertilite problemlerine ve erken menopoza yol açabilir. Yetersiz cerrahi işleme bağlı olarak da hasta tekrar ek bir ameliyat geçirme riskiyle karşı karşıya kalabilir. Literatürde, BOT hastalarında frozen inceleme sonuçlarının yanlış değerlendirilmesi için risk faktörleri olarak; tümör boyutunun fazla olması ve müsinöz histoloji belirtilmiştir (8, 9).

Bu çalışmada BOT'lerinde frozen inceleme sonuçlarının yanlış değerlendirilmesine etki eden risk faktörlerinin retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

01.01.2003-01.07.2019 tarihleri arasında Zekai Tahir Burak hastanesi jinekolojik onkoloji bölümünde kalıcı patoloji inceleme sonucu BOT tanısı alan olguların intraoperatif frozen inceleme sonuçları değerlendirilerek analiz edilmiştir. Metastatik over kanser tanısı alan hastalar ve dış merkezde ameliyat edilen olgular çalışma dışı bırakılmıştır. Hastaların kliniko-patolojik verileri hasta dosyalarından ve kurumun elektronik veri tabanından elde edilmiştir. Çalışmada hastaların yaşı, menopoz durumu, tümör tipi, tümör bilateralitesi, tümör boyutu, tümör evresi preoperatif kanser antijen-125 (CA-125) U/ml, preoperatif karbonhidrat antijen 19-9 (CA 19-9) U/ml düzeyi, frozen inceleme sonuçları ve kalıcı patoloji tanı sonuçları retrospektif olarak incelenmiştir.

Cerrahi operasyon esnasında çıkarılan doku materyalleri, fikse edilmeden frozen incelemenin yapılacağı patoloji laboratuvarına ulaştırılmıştır. Patolog tarafından makroskopik inceleme yapıldıktan sonra, dokunun solid, papiller veya duvar kalınlığının en fazla olduğu şüpheli bölgesinden alınan örnek sıvı

azot -25°C'de dondurulduktan sonra kriyostat cihazı ile 7-8 µm kalınlığında kesitler hazırlanmıştır. Bu kesitler hematoksilin-eosin boyası ile boyanarak mikroskop altında değerlendirilmiştir. Frozen inceleme sonuçları ortalama 20-30 dakika içerisinde patolog tarafından değerlendirilip, telefonla cerrahi ekibe konsültasyon ile bilgi verildikten sonra cerrahinin genişliğine karar verilmiştir. Hastaların kalıcı patoloji tanı sonuçları over tümörleri için FIGO (International Federation of Gynecologist and Obstetricians) 2018 evreleme sistemine göre evrelendirilmiştir (10).

Kalıcı patoloji tanıları borderline olarak raporlanan hastaların geriye dönük değerlendirilen frozen inceleme sonuçları benign, BOT ve en az BOT tanısı alanlar olarak 3 gruba ayrılmıştır. Malign tanısı konusunda şüpheli fakat ikna edici kanıtları olmayan frozen inceleme sonuçları en az BOT olarak tanımlanmıştır. Frozen kesitleri ve kalıcı patoloji tanıları jineko-patoloji konusunda uzmanlaşmış aynı ekip tarafından incelendi. Çalışmada frozen inceleme kesitleri ve kalıcı patoloji tanıları karşılaştırılmıştır. Cerrahi operasyonlar jinekolog onkologlar tarafından uygulandı. Cerrahi prosedür olarak unilateral salpingo- oferektomi, total histerektomi ve bilateral salpingo- oferektomi, periton sitolojisi, multipl periton biyopsileri, apandektomi, infraholik omentektomi ve/veya lenf nodu diseksiyonu (örnekleme/sistematik) hastanın yaşına, fertilite istemine göre uygulanmıştır. Fertilite istemi olan ve genç yaş grubundaki hastalara konservatif cerrahi tercih edilmiştir. Overlerden en az birinin bir bölümünün ve uterusun bırakılmış olması "konservatif cerrahi" olarak tanımlanmıştır. Postmenopozal yaş grubu ve/veya fertilite istemi olmayan hastalara ise definitif cerrahi tercih edilmiştir. Her iki overin ve uterusun alınmış olması "definitif cerrahi" olarak tanımlanmıştır. Cerrahi evreleme kapsamında hastalara multipl peritoneal örnekleme, omentektomi, apandektomi ve lenf nodu diseksiyonu (örnekleme veya sistematik) uygulanmıştır.

Veriler sürekli değişkenler için ortalama±standart sapma, kategorik değişkenler için ortanca (minimum-maksimum) kullanılarak özetlenmiştir.

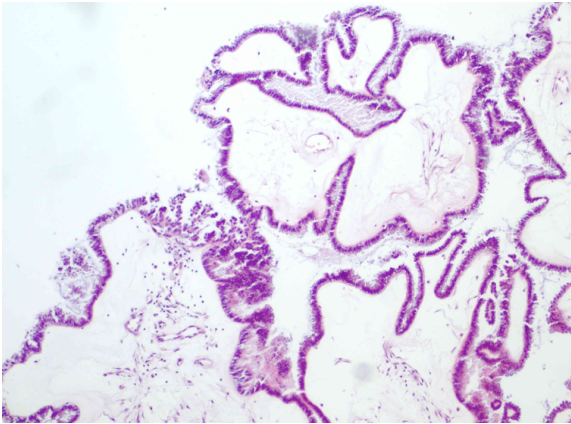
Gruplar arasındaki farklılıkları değerlendirmek amacıyla sürekli değişkenler için Mann-Whitney U-testi, kategorik değişkenlerin uygunluğuna göre karşılaştırılmasında Ki-Kare veya Fisher's Exact testi kullanılmıştır. Frozen tanı ile kalıcı patoloji tanı uyumsuz saptanma oranı ile ilişkili risk faktörleri için olasılık oranlarını (OR) ve % 95 güven aralıklarını (% 95 GA) tahmin etmek için lojistik regresyon modelleri kullanılmıştır. Frozen tanı ile kalıcı patoloji tanı uyumsuz patolojiye sahip olma olasılığı üzerindeki CA 19-9'un etkilerini belirlemek için lojistik regresyon yapılmıştır. Lojistik regresyon modeli istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç vermiştir. $\chi^2(1)=12.945$, $p<0.001$. Bu model, uyumsuz patolojideki (Nagelkerke R^2) varyansın %10.4'ünü açıklamış ve vakaların %93.7'sini doğru bir şekilde sınıflandırmıştır. İstatistiksel anlamlılık $p<0.05$ değerine ayarlanmıştır.

Veri analizi Windows için SPSS 11.5 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak yapılmıştır.

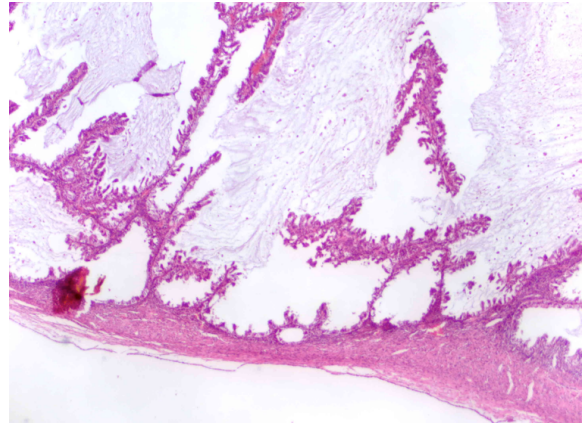
Bu çalışma, Ankara Şehir Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirilmiştir (Tarih:26.05.2023, Karar no: E2-23-4163).

BULGULAR

Bu çalışmaya kalıcı patoloji tanısı BOT olan toplam 232 hasta dahil edilmiştir. Hastaların yaş ortanca değeri 40 (17-78)'idi. Tüm hastaların frozen tanıları doğruluk değeri % 93.7 olarak bulunmuştur. Seröz tümörler için 157 (% 70.7) (Şekil 1) ve müsinöz tümörler için 62 (% 27.9) (Şekil 2) frozen inceleme sonuçları kalıcı parafin sonuçları ile uyumlu olarak saptanmıştır.



Şekil 1. Seröz Tümör



Şekil 2. Müsinöz Tümör

Ortalama en büyük tümör çapı 97.5 (14-300) mm olarak tespit edildi. Hastaların kliniko-patolojik özellikleri Tablo 1'de sunuldu. Frozen tanı sonuçlarına göre hastaların 157 (%66.2)'sinde seröz borderline over tümörü (BOT), 63 (%26.6)'ünde müsinöz BOT, 2 (%0.8)'sinde endometrioid BOT, 12 (%5.1)'sinde benign lezyon ve 3 (%1.2)'ünde en az BOT tanısı konulmuştur (Tablo 1). Frozen ve kalıcı patoloji tanıların karşılaştırılması ise Tablo 2'de sunuldu. Hastaların yaş, en büyük tümör çapı, menopoz

durumu, uygulanan cerrahinin tipi ve median preoperatif CA-125 U/ml düzeyi frozen ile kalıcı patoloji tanı uyumsuz saptanma oranı ile istatistiksel anlamlı ilişkili bulunmadı (Tablo 3). Hastaların frozen incelemede müsinöz histoloji saptanması, preoperatif serum CA 19-9 U/ml düzeyinin yüksek olması ve tümörün bilateral görülmesi frozen tanı ile kalıcı patoloji tanı uyumsuz saptanma oranı ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkili bulundu (sırasıyla; $p<0.001$, $p=0.002$, $p<0.001$) (Tablo 3).

Tablo 1. Hastaların kliniko-patolojik karakteristikleri

Yaş (yıl)	mean±SD	40.88±13.74
	median (min-max)	40.00 (17.00-78.00)
Preoperatif CA-125 U/ml	mean±SD	58.20±193.02
	median (min-max)	23 (5.00-2544.00)
Preoperatif CA 19-9 U/ml	mean±SD	40.82±92.32
	median (min-max)	22.00 (1.00-1065.00)
Preoperatif CA 19-9, n (%)	<44.50	202 (85.2)
	≥44.50	35 (14.8)
Boyut (mm)	mean±SD	103.39±52.02
	median (min-max)	97.50 (14.00-300.00)
Menopoz, n (%)	Yok	155 (% 65.4)
	Var	82 (% 34.6)
Bilateralite, n (%)	Unilateral	225 (% 94.9)
	Bilateral	12 (% 5.1)
Frozen tanıların sonuçları, n (%)	Seröz BOT	157 (% 66.2)
	Müsinöz BOT	63 (% 26.6)
	Benign	12 (% 5.1)
	Endometroid BOT	2 (% 0.8)
	En az BOT	3 (% 1.2)
Kalıcı patoloji tanıların sonuçları, n (%)	Seröz BOT	160 (% 67.5)
	Müsinöz BOT	74 (% 31.2)
	Endometroid BOT	3 (% 1.3)
Frozen ile kalıcı patoloji tanıların uyumluluk oranının karşılaştırılması, n(%)	Uyumsuz	15 (% 6.3)
	Uyumlu	222 (% 93.7)
Konservatif cerrahi, n (%)	Konservatif	87 (% 36.7)
	Definitif	150 (% 63.3)

SD: Standart deviation, Min: Minimum, Max: Maximum

Tablo 2. Frozen ile kalıcı patoloji tanıların karşılaştırılması

Frozen tanıları Sonuçları	Kalıcı patoloji tanıların sonuçları			Toplam (n)
	Seröz BOT (n)	Müsinöz BOT (n)	Endometroid BOT (n)	
Seröz BOT	155	1	1	157
Müsinöz BOT	2	61	0	63
Benign	2	10	0	12
Endometroid BOT	0	0	2	2
En az BOT	1	1	1	3

Tablo 3. Frozen ile kalıcı patoloji tanıların doğruluk oranının karşılaştırılmasına etki eden risk faktörlerinin analizi

n (%)		Frozen ile kalıcı patoloji karşılaştırılan hastaların uyumsuz sonuçları (n=15)	Frozen ile kalıcı patoloji karşılaştırılan hastaların uyumlu sonuçları (n=222)	p
		n (%)	n (%)	
Parafin patoloji	Seröz	3 (% 20)	157 (% 70.7)	<0.001
	Müsinöz	12 (% 80)	62 (% 27.9)	
	Endometroid	0 (% 0.0)	3 (% 1.4)	
Menopoz	Yok	11 (% 73.3)	144 (% 64.9)	0.505
	Var	4 (% 26.7)	78 (% 35.1)	
CA 19-9 kategorik	<44.50	8 (% 53.3)	194 (% 87.4)	0.002
	≥44.50	7 (% 46)	28 (% 12.6)	
Evreleme cerrahisi	Yok	3 (% 20)	17 (% 7.7)	0.121
	Var	12 (% 80)	205 (% 92.3)	
Bilateralite	Unilateral	10 (% 66.7)	215 (% 96.8)	<0.001
	Bilateral	5 (% 33.3)	7 (% 3.2)	
Yaş (yıl)		37.20±12.50 (mean) 42 (median) (20-56)	41.13±13.81 (mean) 40 (median) (17-78)	0.324
En büyük tümör çapı		142.20±82.12 (mean) 100 (median) (50-280)	100.75±48.49 (mean) 95 (median) (14-300)	0.134
Preoperatif CA-125 IU/ml		81.60±137.88 (mean) 26 (median) (10-557)	56.62±196.32 (mean) 23 (median) (5-2544)	0.211

SS: Standart sapma, Min: Minimum, Max: Maximum

*** İkişerli karşılaştırma yapıldığında, yalnızca seröz ve müsinöz grupta istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (p<0.05).

Çalışmamızda, CA 19-9 değeri için ROC değeri 44.5 olarak bulundu (Tablo 4). CA 19-9 değeri düşük olan bireylerin frozen tanı ile kalıcı patoloji tanı uyumsuz

sahip olma olasılığı CA 19-9 değeri yüksek olanlara göre 6.06 kat daha fazla olarak bulundu (Tablo 5).

Tablo 4. CA 19-9 için ROC eğrisi ve eşik değeri

	Eşik değeri	AUC (95 % CI)	p	Sensitivite (%)	Spesifisite (%)
CA 19-9	44.50	0.688 (0.537-0.838)	0.015	0.467	0.874

ROC: İşlem Karakteristik Eğrisi (Receiver Operating Characteristic)

AUC: ROC Eğrisi altında kalan alan (Area Under Curve)

Tablo 5. Frozen ile kalıcı patoloji tanıların doğruluk oranının karşılaştırılmasına etki eden CA 19-9 düzeyi Logistic Regression analizi

		OR (95% CI)	p
CA 19-9	<44.50	6.062 (2.040-18.014)	0.015
	≥44.50	1 (reference)	

TARTIŞMA

Over kitlelerin cerrahi yönetimi neoplazmin benign, BOT veya malign olmasına göre değişmektedir. Operasyon esnasında over kitlesinin tanısını belirlemek için frozen kesit inceleme yapılır. BOT'lerin frozen tanı doğruluk oranı diğer over tümörlerine göre daha düşüktür ve literatürde % 56-89 oranında değişmektedir (11). Bizim çalışmamızda frozen tanı doğruluk oranı BOT hastalarında % 93.7 olarak bulundu. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Çalışmamızda hastanın yaşı, preoperatif serum CA-125, menopoiz durumu, tümör boyutu ve uygulanan cerrahinin tipi frozen tanı doğruluk oranı ile ilişkili bulunmamıştır.

Üreyen ve ark. yaptıkları çalışmada, frozen tanı doğruluk oranı seröz BOT'lerde %92, müsinöz BOT'lerde ise %62 olarak saptamışlardır (12). Müsinöz BOT'ler seröz BOT'lere göre tümör boyutları büyük olduğu için frozen uyumluluk oranlarının seröz BOT'lere göre daha düşük bulunmaktadır. Özellikle müsinöz BOT'lerin heterojen yapıda olmasından ötürü aynı tümörde benign, malign ve borderline alanları içermesi olasılığı daha fazla olduğundan frozen tanıların düşük doğruluk değeri daha fazla saptanmaktadır. Yapılan araştırmalar büyük dokudan alınan örnek sayısının artırılması ile frozen doğruluk oranının yükseltilebileceğini göstermektedir (8, 9). Benzer başka bir çalışmada Huang ve ark. yaptığı 13 çalışmayı içeren 1577 BOT tanılı hastalar üzerinde yapılan meta-analizde müsinöz histoloji frozen ile kalıcı parafin arasında tanı uyumsuzluğu risk faktörü

olarak istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (13). Bizim çalışmamızın sonuçları da literatürle uyumlu olarak müsinöz BOT'lerde frozen tanı oranı diğer BOT tanılarıyla kıyaslandığında düşük olarak saptanmıştır.

Seçkin ve ark. yaptığı çalışmada, preoperatif CA 19-9 düzeyinin yüksekliği müsinöz BOT hastalarında kalıcı patoloji tanısında daha fazla malign tanı konulması ile ilişkili bulunmuştur (14). Çalışmamızda ROC analizi ile CA 19-9 düzeyini belirledik ve CA 19-9 yüksekliği istatistiksel olarak anlamlı frozen tanısı ile kalıcı parafin uyumsuzluğu için artmış risk artışı olarak bulunmuştur.

Derman ve ark. yaptığı tek merkez retrospektif çalışmada BOT hastalarında tümörün bilateral olmasının, frozen tanı uyumsuzluk oranı için risk faktörü olduğu sonucuna varılmıştır (15). Bir başka çalışmada yapılan meta analizde, tümörün unilateral olması, frozen tanısı ile kalıcı patoloji sonuçları arasındaki uyumsuzluk risk faktörü olarak bulunmuştur (13). Bizim çalışmamızda da tümörün bilateral olması, frozen tanısı ile kalıcı patoloji sonuçları uyumsuzluğu için istatistiksel olarak anlamlı risk faktörü olarak saptandı.

BOT hastaları invaziv kanser hastalarına göre sıklıkla daha erken yaşta tanı alırlar. Bizim çalışmamızda da hastaların tanı anında median yaş ortalaması 40.8 olarak saptandı ve literatür ile uyumlu olarak bulundu (16, 17).

Literatürde yayınlanan çalışmalarda tümör boyutu arttıkça BOT frozen tanı doğruluk oranı azalmaktadır. Araştırmacılar, büyük tümör boyutlarını incelemenin ve tanı konmasının zor olduğunu belirtmişlerdir (18,

19). Farklı görüş olarak tümör boyutunun frozen doğruluk oranının etkilemediğini belirten çalışmalar da bulunmaktadır (15, 20). Bizim çalışmamızda tümör boyutu ile frozen kalıcı parafin doğruluk oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Shah ve ark. 220 BOT hasta üzerinde yaptığı çalışmada hastaların farklı merkezlerde yapılan frozen sonuçlarını değerlendirmişler. Jinekolojik onkoloji konusunda uzmanlaşmış patoloğlar ile genel patoloğlar arasında frozen tanı doğruluk oranında istatistiksel anlamlı farklılık saptamamışlardır (8). Fakat çalışmalarda frozen sonuçlarının uzmanlaşmış jineko-patoloğlar tarafından değerlendirilmesinin frozen tanı doğruluk oranını arttırdığını raporlayan yayınlar da mevcuttur (21, 22) Bizim çalışmamızda frozen tanı doğruluk oranlarımız yüksek olarak % 93.7 bulunmuştur. Bunun nedeni olarak frozen inceleme sonuçlarının tamamını alanında uzmanlaşmış jineko-patoloğlar tarafından incelenmesinden kaynaklı olduğunu düşünüyoruz.

Bu çalışmanın bazı sınırlılıkları arasında retrospektif tasarıma sahip olması ve frozen tanısı BOT dışında kalan hastaların çalışmaya dahil edilmemesi yer almaktadır. Öte yandan, hasta sayısının yüksek olması, operasyonların tek merkezde aynı cerrahi ekip tarafından yapılması ve aynı jinekolo-patoloğlar tarafından frozen ve frozen ile kalıcı patoloji tanıların aynı jinekopatoloğlar tarafından değerlendirilmiş olması çalışmanın güçlü yönleri arasında sayılabilir.

Sonuç olarak; BOT tanısı alan hastaların genellikle iyi prognozlu olması nedeniyle, özellikle genç yaş grubundaki hastalarda fertilite koruyucu cerrahi tedavisi önerilmektedir. Bu bağlamda, BOT tanısının frozen inceleme ile doğru bir şekilde konulması, uygulanacak cerrahinin kapsamının belirlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Tümörün bilateral olması, müsinöz histoloji ve preoperatif CA 19-9 düzeyi yüksekliği hastalara frozen tanısında yanlış değerlendirmelere neden olabilir. Bu nedenle cerrah, hastanın klinik öyküsünü, intraoperatif bulgularını ve patoloji uzmanının frozen değerlendirmesini dikkate alarak en uygun cerrahi yaklaşımı belirlemelidir.

TEŞEKKÜR

* Frozen kesitleri ve kalıcı patoloji tanılarını inceleyerek çalışmamıza katkıda bulunan Patoloji Uzmanı Dr. Serap AKBAY'a teşekkürlerimizi sunarız.

ETİK KURUL ONAYI

* Bu çalışma, Ankara Şehir Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirilmiştir (Tarih:26.05.2023, Karar no: E2-23-4163).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. De Decker K, Jaroch KH, Edens MA, Bart J, Kooreman LFS, Kruitwagen RFP, et al. Frozen section diagnosis of borderline ovarian tumors with suspicious features of invasive cancer is a devil's dilemma for the surgeon: A systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2021; 100 (8):1369-76.
2. Sukumaran R, Somanathan T, Mathews A, Kattor J, Sambasivan S, Nair RP. Role of frozen section in intraoperative assessment of ovarian masses: A tertiary oncology center experience. *Indian J Surg Oncol*, 2014; 5 (2): 99-103.
3. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RHE. (eds) (2014) WHO classification of tumours of female reproductive organs. Lyon, IARC.
4. Prat J. Pathology of borderline and invasive cancers. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2017; 41:15-30.
5. Trillsch F, Mahner S, Ruetzel J, Harter P, Ewald-Riegler N, Jaenicke F, et al. Clinical management of borderline ovarian tumors. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2010;10 (7):1115-24.
6. Sherman ME, Mink PJ, Curtis R, Cote TR, Brooks S, Hartge P, et al. Survival among women with borderline ovarian tumors and ovarian carcinoma: a population-based analysis. *Cancer*, 2004;100 (5):1045-52.
7. Geomini P, Bremer G, Kruitwagen R, Mol BW. Diagnostic accuracy of frozen section diagnosis of the adnexal mass: a metaanalysis. *Gynecol Oncol*, 2005; 96 (1):1-9.
8. Shah JS, Mackelvie M, Gershenson DM, Ramalingam P, Kott MM, Brown J, et al. Accuracy of intraoperative frozen section diagnosis of borderline ovarian tumors by hospital type. *J Minim Invasive Gynecol*, 2019; 26 (1): 87-93.
9. Pongsuwareeyakul T, Khunamornpong S, Settakorn J, Sukpan K, Suprasert P, Siriaunkgul S. Accuracy of frozen-section diagnosis of ovarian mucinous tumors. *Int J Gynecol Cancer*, 2012; 22 (3): 400-6.
10. Berek JS, Kehoe ST, Kumar L, Friedlander M. Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *Int J Gynecol Obstet*, 2018; 143: 59-78.
11. Shih KK, Garg K, Soslow RA, Chi DS, Abu-Rustum NR, Barakat RR. Accuracy of frozen section diagnosis of ovarian borderline tumor. *Gynecol Oncol*, 2011;123 (3):517-21.
12. Ureyen I, Turan T, Cirik DA, Tasci T, Boran N, Bulbul D, et al. Frozen section in borderline ovarian tumors: is it reliable? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2014; 181:115-8.
13. Huang Z, Li L, Li C, Ngaujah S, Yao S, Chu R, et al. Diagnostic accuracy of frozen section analysis of borderline ovarian tumors: a meta-analysis with emphasis on misdiagnosis factors. *J Cancer*, 2018; 9 (16): 2817-24.
14. Seckin KD, Karşlı MF, Yucel B, Bestel M, Yıldırım D, Canaz E, et al. The utility of tumor markers and neutrophil lymphocyte ratio in patients with an intraoperative diagnosis of mucinous borderline ovarian tumor. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2016; 196: 60-3.
15. Basaran D, Salman M, Calis P, Ozek A, Ozgul N, Usubütün A, et al. Diagnostic accuracy of intraoperative consultation (frozen section) in borderline ovarian tumours and factors associated with misdiagnosis. *J Obstet Gynaecol*, 2014; 34 (5): 429-34.
16. Park JY, Lee SH, Kim KR, Kim YT, Nam JH. Accuracy of frozen section diagnosis and factors associated with final pathological diagnosis upgrade of mucinous ovarian tumors. *J Gynecol Oncol*, 2019; 30 (6):e95.

17. Zhang W, Jia S, Xiang Y, Yang J, Jia C, Leng J. Factors associated with misdiagnosis of frozen section of mucinous borderline ovarian tumor. *J Int Med Res*, 2019; 47 (1): 96-104.
18. Kim JH, Kim TJ, Park YG, Lee SH, Lee CW, Song MJ, et al. Clinical analysis of intra-operative frozen section proven borderline tumors of the ovary. *J Gynecol Oncol*, 2009; 20 (3):176-80.
19. Tempfer CB, Polterauer S, Bentz EK, Reinthaller A, Hefler LA. Accuracy of intraoperative frozen section analysis in borderline tumors of the ovary: a retrospective analysis of 96 cases and review of the literature. *Gynecol Oncol*, 2007; 107 (2): 248-52.
20. Storms AA, Sukumvanich P, Monaco SE, Beriwal S, Krivak TC, Olawaiye AB, et al. Mucinous tumors of the ovary: diagnostic challenges at frozen section and clinical implications. *Gynecol Oncol*, 2012;125 (1): 75-9.
21. Brun JL, Cortez A, Rouzier R, Callard P, Bazot M, Uzan S, et al. Factors influencing the use and accuracy of frozen section diagnosis of epithelial ovarian tumors. *Am J Obstet Gynecol*, 2008; 199 (3): 244.
22. Bige O, Demir A, Saygili U, Gode F, Uslu T, Koyuncuoglu M. Frozen section diagnoses of 578 ovarian tumors made by pathologists with and without expertise on gynecologic pathology. *Gynecol Oncol*, 2011;123 (1): 43-6.

Bibliometric examination of health tourism in the context of hygiene

Sağlık turizminin hijyen bağlamında bibliyometrik incelemesi

Nebi SEREN¹ (ID)

ABSTRACT

Objective: In recent years, health tourism has been increasing its importance in terms of both the development of national economies and improving the quality of health systems. Health tourism is summarized as the visit of people who demand treatment to different regions in order to access high-cost treatments outside the region where they live, often at lower prices. Health tourism is included in the literature not only in terms of access to lower-priced services, but also as a form of tourism that occurs when individuals who demand the service want to access quality services. This study aims to evaluate the publications on health tourism, which consumers apply in line with their needs, from different perspectives, to reveal the diffusion and relationships of existing studies and to examine the hygiene effect.

Methods: The data used in this study were obtained from studies published only in the English language by filtering the studies in "Scopus" and "WoS" (Web of Science) databases between 2020-2024. In the retrieval of the data, restrictions were made as "health tourism" in titles, abstracts and keywords and "hygiene" in all

ÖZET

Amaç: Sağlık turizmi son yıllarda hem ülke ekonomilerinin gelişimi hem de sağlık sistemlerindeki kaliteyi ileri seviyeye taşıma başlıklarında önemini artırmaktadır. Sağlık turizmi tedaviyi talep eden kişilerin yüksek maliyetli tedavilere, yaşadıkları bölge dışında, çoğunlukla daha düşük fiyatlarla ulaşabilmeleri için farklı bölgeleri ziyaret etmeleri olarak özetlenmektedir. Sağlık turizmi sadece daha düşük fiyatlı hizmete ulaşabilme noktasında değil, aynı zamanda hizmeti talep eden bireylerin kaliteli hizmete ulaşmak istediklerinde ortaya çıkan turizm şekli olarak da literatürde yer almaktadır. Bu çalışma, tüketicilerin ihtiyaçları doğrultusunda başvurdukları sağlık turizmi hakkında yapılan yayınları farklı açılardan değerlendirerek mevcut çalışmaların yayılım ve ilişkilerini ortaya koymak ve hijyen etkisini incelemeyi amaçlamaktadır.

Yöntem: Bu çalışmada kullanılan veriler, 2020-2024 yılları arasında "Scopus" ve "WoS" (Web of Science) veri tabanlarında yapılan çalışmalar süzülerek, sadece İngilizce dilinde yayınlanan çalışmalardan elde edilmiştir. Verilerin alınmasında, başlık, özet ve anahtar

¹Bursa Uludağ University, Orhangazi Yeniköy Asil Celik Vocational School, Department Of Computer Technologies, Bursa, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Nebi SEREN

Bursa Uludağ Üni., Orhangazi Yeniköy Asil Çelik MYO, Bil.Tek. Böl., Orhangazi / Bursa - Türkiye

E-posta / E-mail : nebiseren@uludag.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 01.10.2024

Kabul Tarihi / Accepted : 24.10.2024

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2025.01799

Seren N. Bibliometric examination of health tourism in the context of hygiene. Turk Hij Den Biyol Derg, 2025; 82(2): 291 - 302

fields. In the bibliometric analysis part, co-author analysis, keywords analysis, country citation analysis, author citation analysis, source citation analysis, and bibliographic matching analysis were performed, respectively, using the Vosviewer program. The geographical distribution of studies on health tourism was visualized using the R program and Biblioshiny plugin.

Results: As a result of the review, it was determined that the studies searched in the WoS database consisted of 3512 research articles, 338 reviews, 217 early access publications, and 179 conference proceedings, while the publications in the Scopus database were 303 research articles, 55 reviews, 60 book chapters, and 24 conference proceedings. It has been observed that the number of studies conducted in the last five years has increased significantly, especially after the Covid-19 pandemic. In addition, the interconnections of studies on health tourism were evaluated from different perspectives. The countries, authors, and relationship tables that publish the most on the subject were revealed.

Conclusion: It has been observed that studies on health tourism continue to increase every year. It has been determined that the research on health tourism is unevenly distributed on the basis of countries and that the leading countries in this field constitute a significant part of the total studies. The importance of hygiene concept in health tourism has been shown with the help of analysis results, tables and graphs.

Key Words: Public health, health tourism, tourism, hygiene, bibliometric analysis

kelimelerde “sağlık turizmi” ve tüm alanlarda “hijyen” şeklinde kısıtlama yapılmıştır. Bibliyometrik analiz kısmında, Vosviewer programı kullanılarak sırasıyla ortak yazar analizi, anahtar kelimeler analizi, ülke atıf analizi, yazar atıf analizi, kaynak atıf analizi ve bibliyografik eşleştirme analizi yapılmıştır. Sağlık turizmi üzerine yapılan çalışmaların coğrafik dağılımı, R programı ve Biblioshiny eklentisi kullanılarak görselleştirilmiştir.

Bulgular: İnceleme sonucunda WoS veri tabanında taranan çalışmaların 3512 araştırma makalesi, 338 derleme, 217 erken erişim yayını ve 179 konferans bildirisi şeklinde olduğu tespit edilmiştir, Scopus veri tabanındaki yayınların ise 303 araştırma makalesi, 55 derleme, 60 kitap bölümü ve 24 konferans bildirisi şeklinde sıralandığı belirlenmiştir. Son beş yıl içinde yapılan çalışmaların sayısının özellikle Covid-19 pandemisinin ardından önemli ölçüde arttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, sağlık turizmi hakkında yapılan çalışmaların birbirleriyle olan bağlantıları farklı perspektiflerden değerlendirilmiştir. Konuyla ilgili en çok yayın yapan ülkeler, yazarlar ve ilişki tabloları ortaya çıkarılmıştır.

Sonuç: Sağlık turizmi üzerine yapılan çalışmaların her yıl artarak devam ettiği gözlemlenmiştir. Sağlık turizmi üzerine yapılan araştırmaların ülkeler bazında dengesiz dağıldığı ve bu alanda öncü ülkelerin toplam çalışmaların önemli bir bölümünü oluşturduğu tespit edilmiştir. Sağlık turizminde hijyen kavramının önemi, analiz sonuçları, tablolar ve elde edilen grafikler yardımıyla gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Halk sağlığı, sağlık turizmi, turizm, hijyen, bibliyometrik analiz

INTRODUCTION

One of the primary drivers of medical tourism is the disparity in healthcare costs between countries. Patients from developed nations often seek medical services in countries where healthcare is significantly

cheaper, without compromising on quality. This trend has been observed in various studies, which have indicated that countries positioning themselves as medical tourism destinations have economically benefited. For example, India, Thailand, and Malaysia have emerged as leaders in this sector, attracting

millions of international patients annually, thereby stimulating local economies through job creation and infrastructure development (1,2). The global medical tourism market is projected to reach approximately \$207.9 billion by 2027, underscoring the financial potential of this industry (1).

Furthermore, the integration of the health and tourism sectors has been highlighted as a critical area for both research and policy development. The literature suggests that a comprehensive understanding of medical tourism requires an analysis of its economic, social, and cultural dimensions (3,4). For instance, the establishment of international quality standards and the harmonization of legal frameworks have been deemed essential for ensuring patient safety and enhancing the attractiveness of medical tourism destinations (5).

These cost dynamics affect healthcare systems in both source and destination countries. While many studies emphasize developments positively, some studies highlight the negative aspects of health tourism, particularly within the context of cost savings. Concerns were voiced by Vijaya (6) on the transfer of health problems from developed to developing nations while taking advantage of lower cost at abroad. This suggests that ethical concerns and conflicts with healthcare system sustainability also deserve attention beyond the economic motivations behind health tourism. One of the most significant adverse impacts of health tourism on host countries' healthcare systems is the diversion of resources away from local populations to foreign patients. Johnston et al. (2012) pointed out that the increasing demand from medical tourists can make local healthcare services and specialists less accessible to local citizens(7). Another study highlighted how health tourism in host countries could increase healthcare costs, exacerbate existing health inequalities, and make healthcare access more challenging for lower-income groups (8). Additionally, health tourism may prompt local healthcare workers to migrate to urban centers, worsening healthcare provision in rural areas.

A study emphasized that such migration of specialists could negatively impact healthcare delivery in rural regions and intensify health disparities in those areas (9). This study also noted that health tourism often leads healthcare professionals to seek better wages in significant cities, weakening local healthcare systems (10). Another negative consequence of health tourism is its pressure on public healthcare systems. Beladi et al. (2017) argued that health tourism can erode public healthcare resources, making it harder for the local population to access healthcare (11). Another study stressed that this can threaten the sustainability of healthcare systems and create significant barriers for local populations seeking medical care (12).

The evolution of internet technologies has also played a pivotal role in shaping the landscape of medical tourism, altering how patients seek treatment abroad. Various studies have highlighted how online platforms facilitate health tourism. One of the critical aspects of this transformation is the increasing reliance of patients on the internet for information and decision-making regarding medical tourism. Behmane et al. (2021) emphasized that potential medical tourists use healthcare providers' websites to communicate and make informed decisions about the destinations they will travel to for treatment (13).

MATERIAL and METHOD

The study was conducted using a data set compiled from academic publications indexed in the Web of Science (WoS) and Scopus databases, based on data from the last five years (2020-2024) at Bursa Uludağ University. The study aimed to observe the progress of studies in the field of health tourism and to contribute to future studies in this field with the data sets created by revealing the relationships between these studies. The abundance of studies on the importance of health tourism for national economies and health enterprises revealed the necessity of this study due to its potential to contribute to the study of this subject

in the field of social sciences. In the literature, the economic returns of health tourism were examined in different scopes, and the studies conducted in terms of financial returns, improvements to the health system, and negative phenomena that it may bring showed the contribution that examining this issue in detail and through current data would make to the literature.

Data were collected on October 10, 2024, by searching the keywords “health and tourism” in the title, abstract, and keyword fields, and “hygiene” in all fields, across both Scopus and WoS databases. This data set, obtained under the specified restrictions, forms the basis of the study. The data were then subjected to bibliometric analysis using Vosviewer software to create relationship maps. The maps were created for the following analyses: co-author analysis, keyword analysis, country citation analysis, author citation analysis, source citation analysis and bibliometric link analysis. A collective analysis section was created for each map, providing relevant comments and interpretations. The following sections present bibliographic studies based on this data set. Furthermore, the R program, Rstudio program and biblioshiny plugin were used to create the map of the countries that produced the most publications and the table of the most cited publications. The data sets obtained from the Scopus and WoS databases were combined with the help of short codes in the Rstudio plugin. The received data sets were in bibtex format and were first merged (for WoS) and then added to each other in R studio.

RESULTS

The data used in the study were obtained from Scopus and WoS databases by searching for “health tourism” in the title, abstract, and keywords section and “hygiene” in all fields section, and it was seen that there were a total of 9,394 results in both databases. However, since only the last five years were limited in the study, this number was obtained as 4605 in

total. The distribution of these results according to publication types revealed 3820 research articles, 394 review articles, nine books, 95 book chapters, 203 conference proceedings, and 51 editorials. The studies were covered a variety of disciplines, and the majority fell into the categories of Medicine (356), Social Sciences (218), Environmental Science (892), Business, Management, and Accounting (595), and Agriculture and Biological Sciences (80). This dataset, obtained under the specified restrictions, was used as the basis of the study. These data were subsequently subjected to bibliometric analysis using the Vosviewer software to generate relationship maps. The maps were created for co-author analysis, keyword analysis, country citation analysis, author citation analysis, source citation analysis, and bibliometric coupling analysis. For each map presented in the result section of this study, comments were made in the discussion section.

When the resulting co-authorship analysis was examined, it was seen that a map consisting of 4 clusters created by a total of 45 authors emerged. A total of 405 connections were established between these authors, with a connection strength of 435, as indicated by VOSviewer. The most productive authors, ranked by the number of publications, were identified as Han and Heesup with 23 publications, Wen and Jun with 19 publications, and Hall and J. Michael with 14 publications. Among them, no one determined to be among the most connected authors in the network. In terms of citations, the top three authors were found to be Hall and J. Michael with 2687 citations, Shin and Hakseung with 526 citations, and Wen and Jun with 442 citations.

An examination of the keywords associated with the search query ‘health,’ ‘tourism,’ and ‘hygiene’ revealed that the term ‘hygiene’ was notably prevalent, particularly in studies conducted during the COVID-19 pandemic. The five most commonly used keywords in the studies were ‘Hygiene’ 512 times, ‘Tourism’ 351 times, ‘Medical Tourism’ 116 times, ‘Pandemic’ 115 times, and ‘Well-being’ 83 times. Regarding total link strength, the strongest keywords

In terms of total publications, the Peoples Republic of China and the United States of America were found to maintain their lead, producing 630 and 539 publications, respectively. With 319 publications, Spain was ranked third in total publications but was not cited as highly as England, indicating a shift in influence when comparing publication volume to citation impact.

Figure 4 shows the map where countries are separated according to the scientific studies conducted on the subject. The countries in dark colors on the map are the countries that produce the most scientific publications, while the countries that produce the least publications are indicated in light colors. The numbers can be observed in the country citation analysis section.

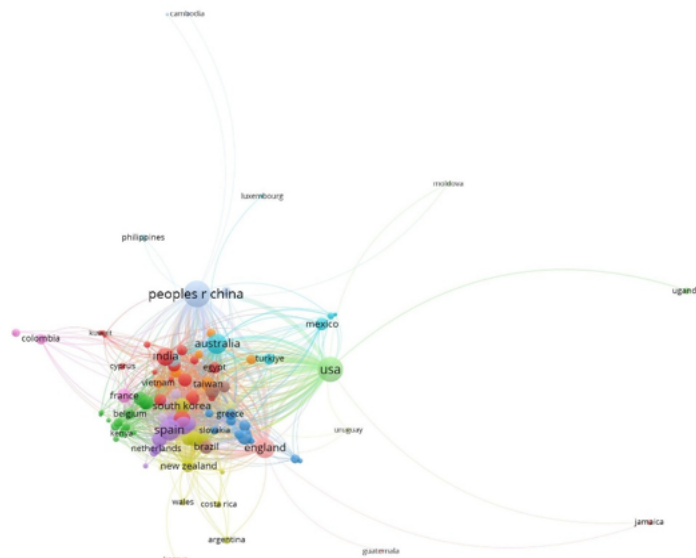


Figure 3. Country citation analysis for health, tourism, and hygiene

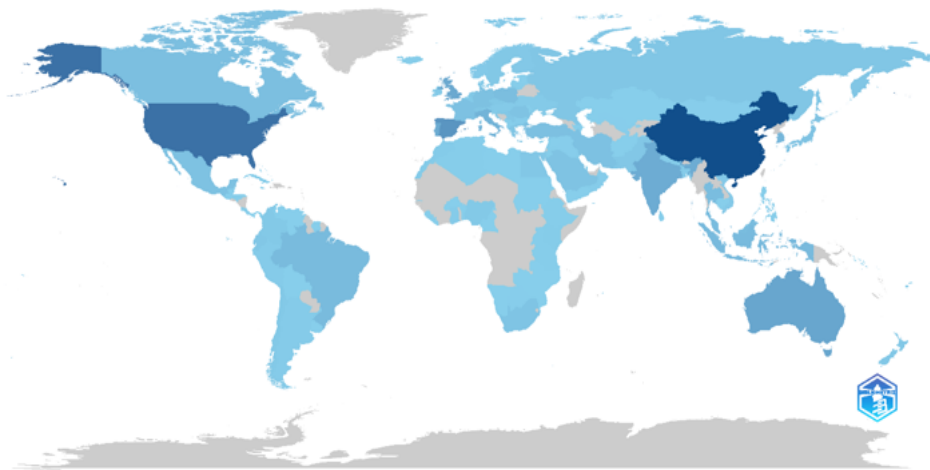


Figure 4. Countries' scientific production

To obtain relevant results, the dataset from Scopus and WoS was filtered to include only authors with at least one publication that had received at least one citation. In the resulting map, 779 author were grouped into 21 clusters, showcasing 6584 connections with a strength of 7449. Among these works, the three most productive authors were identified as Han and Heesup, with 23 publications, and Wen and Jun, with 19 publications, respectively.

A dataset was created by using specific filters to

identify the cited sources. The citation analysis was conducted by including publications with at least one publication and receiving at least one citation. When the network map was generated for this citation analysis, 300 sources were identified, revealing 49 clusters, 826 connections, and a total link strength of 1284. The most cited source was found to be the Sustainability, followed by International Journal of Environmental Research and Public Health in second place, and the Current Issues in Tourism in third place.

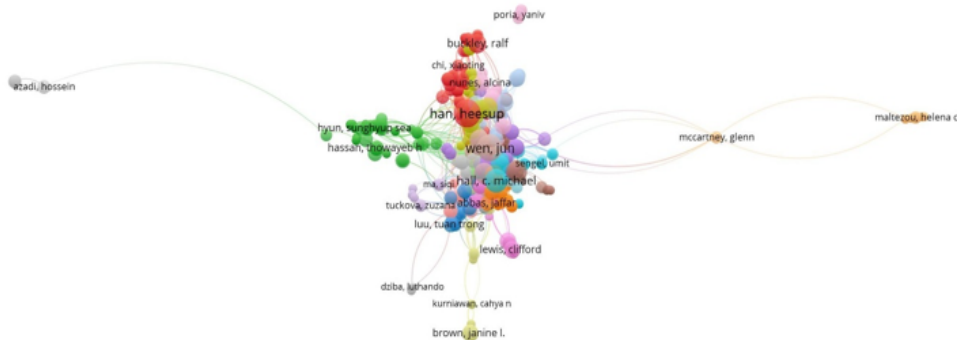


Figure 5. Author citation analysis for health tourism and hygiene

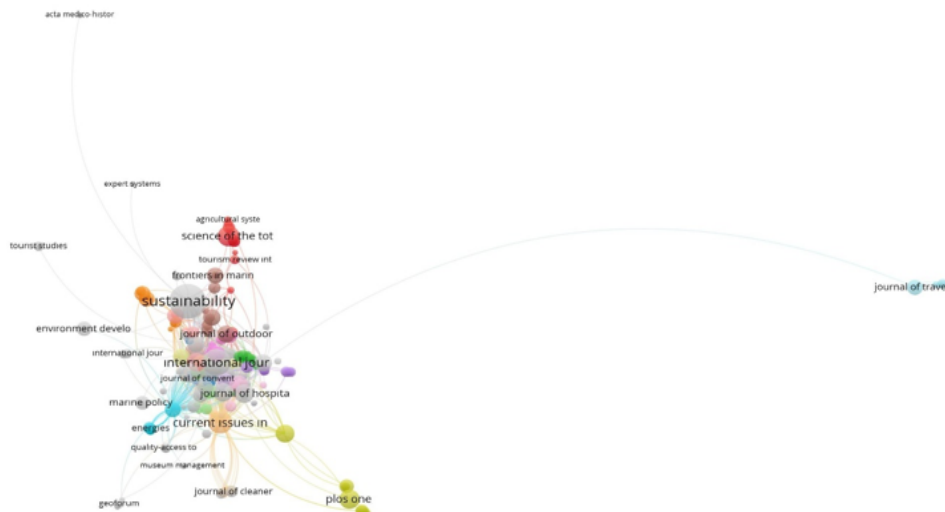


Figure 6. Source citation analysis for health, tourism and hygiene

Bibliometric coupling analysis, which included 1000 documents with hidden connections, revealed the following results: 6 clusters, 116123 connections, and a total connection strength of 202937. At

the end of the analysis, the publications with the highest bibliographic matches were identified as Gossling (2021) with 1841 citations, Hall (2020) with 619 citations, and Bae (2021) with 418 citations.

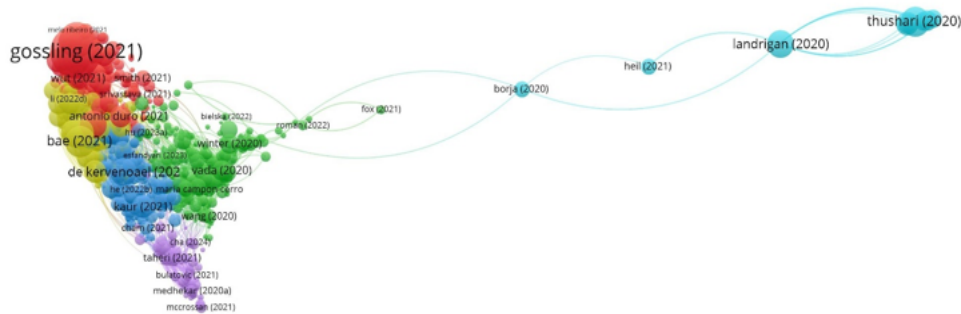


Figure 7. Bibliographic coupling analysis for health, tourism and hygiene

DISCUSSION

When examining the impact of hygiene standards on selection of travel destinations, several studies indicate that hygiene plays a significant role. Appollo et al. emphasized that hygiene standards should be improved, particularly in developing countries, to reduce public health risks for locals and tourists (14). This perspective is supported by Rasethuntsa, who notes that disease risks can significantly affect the tourism sector, and inadequate hygiene practices may negatively impact health tourism (15). The importance of hygiene and cleanliness in the tourism sector has been examined in many studies in different areas. Dikmen and Irmak (2016) examined the effects of bathing water quality on public health in their study. Evidence was presented that poor water quality is associated with various health outcomes, especially gastrointestinal diseases and skin infections (16). The COVID-19 pandemic has further highlighted this relationship. Zhong's study indicated that the pandemic necessitated enhanced

hygienic management and contactless services in the hospitality industry (17). This shift demonstrates that travelers now prioritize health and hygiene practices, which strongly influence their destination choices and overall travel experiences. Moreover, implementing effective hygiene protocols is critical for ensuring public safety in tourism environments. Musfirah et al. (2022) discussed the vital importance of hand hygiene among employees, especially in areas where the risk of disease transmission is high (18). Similarly, Niyonzima et al. stated that the availability of clean water and hand hygiene protocols are crucial enablers for healthcare workers. This condition can also apply to tourism (19). The necessity for compliance with hygiene protocols is further supported by Tyagi et al. (2018), whose findings emphasize that knowledge and education regarding hand hygiene are essential for adherence in healthcare settings (20).

When the results obtained in this study are examined in terms of demonstrating commitment to hygiene and health tourism, outputs of this work were found to highlight the central role of disease

prevention and hygiene practices in health tourism, especially during global health crises like the COVID-19 pandemic. Keywords related to Epidemiology, one of the higher-ranking words, further emphasized the inherent connection between hygiene and disease management in health tourism. This demonstrates that a strong focus on hygiene is essential to ensure patient safety and improve health tourism settings' overall quality of care. Although the word epidemiology remained at the bottom of the list in this study, it was observed that this word rose to higher rankings when the scope of the study was expanded, not limited to the last five years (Figure 2). The importance of the keyword "epidemiology" which is related to the study of disease outbreaks, was particularly striking. Significantly, many of the most frequently used terms were related to diseases. This trend emphasized the critical importance of hygiene in preventing disease outbreaks in the field of health tourism. In previous years, we see that the word malaria is used instead of the word pandemic. This reveals the changing sensitivities after the Covid-19 outbreak (Figure 2). When the results are examined by country, it is seen that Spain has a significant publication output, while the People's Republic of China and the United States have a significant publication output in terms of both citations and publication volume. However, Spain is found to have a lower citation impact than the other two countries (Figure 3). Author citation analyse results indicated that many works had been produced by these authors, and they were considered to occupy prominent positions on the map of influential contributions to health tourism hygiene. Their presence in publication volume and citation metrics was found to underscore their substantial impact on the discipline, and their role was highlighted as critical contributors to advancing knowledge in this area (Figure 5). Source citation analyse was found to highlight the interconnected nature of research in health tourism hygiene, suggesting that these works were collectively contributing to the evolution of knowledge within the field (Figure 6). Bibliographic

coupling was shown to indicate that independent studies containing shared bibliographies were interconnected through a hidden relationship. In other words, two seemingly independent studies were found to be linked if they shared the same bibliographic structure. Studies that had not received citations were excluded from the dataset in this analysis (Figure 7).

The evolving nature of health tourism necessitates a focus on cleanliness, health, and safety (CHSE) protocols. Implementing CHSE guidelines is crucial for the post-pandemic recovery of the tourism sector, as highlighted by Negara and Suandari in their study on rafting tourism, where they emphasized the importance of these protocols (21). The focus on CHSE is also evident in the work of Fachryandini et al. (2022), who noted that compliance with new health protocols was necessary to ensure the safety of tourism activities (22). When the countries that are suitable for CSHE certification and are deemed worthy of receiving a green stamp by the World Travel and Tourism Council are examined, it is seen that they coincide with the countries that produce the most publications in the context of health tourism and hygiene as a result of this study (Figure 2).

When health tourism studies are examined in the context of hygiene, the names of the top 10 most cited studies conducted in this field in the last five years, their DOI numbers, the total number of citations they have received, and the total number of citations they have received per year are shown (Table 1).

One of the most up-to-date ways to gain a competitive advantage in marketing is through the analysis of product feedback within specific criteria. Bilici (2024) stated in their study that businesses' feedback was analyzed to determine areas where products could be improved to gain a competitive advantage (23). If more successful outcomes in health tourism are desired, it is essential that marketing strategies, particularly those focusing on hygiene perception, be reviewed. Patient satisfaction can be enhanced through efforts in this area, establishing a solid foundation for successful marketing.

Table 1. Most cited sources in hygiene search in health tourism

Paper	DOI	TC	TC Per Year
Abbass K, 2022, Environ Sci Pollut Res	10.1007/S11356-022-19718-6	513	171,00
Bashir Mf, 2020, Air Qual Atmos Health	10.1007/S11869-020-00894-8	458	91,60
Bae Sy, 2021, Curr Issues Tour	10.1080/13683500.2020.1798895	418	104,50
Neuburger L, 2021, Curr Issues Tour	10.1080/13683500.2020.1803807	397	99,25
Gobler Cj, 2020, Harmful Algae	10.1016/J.Hal.2019.101731	319	63,80
Zeng Z, 2020, Tour Geogr	10.1080/14616688.2020.1762118	316	63,20
De Kervenoael R, 2020, Tourism Manag.	10.1016/J.Tourman.2019.104042	296	59,20
Kim Ss, 2021, Int J Hosp Manag.	10.1016/J.Ijhm.2020.102795	291	72,75
Kaushal V, 2021, Int J Hosp Manag.	10.1016/J.Ijhm.2020.102707	290	72,50
Shin H, 2020, Int J Hosp Manag.	10.1016/J.Ijhm.2020.102664	286	57,20

TC: Total Cites

This study could be further enhanced by examining the strategies employed by countries that have achieved success in health tourism, and by conducting a comparative analysis with countries that have relatively limited activity in

this field. Such an approach would provide valuable insights into health tourism marketing and help to evaluate the influence of hygiene-related factors on marketing effectiveness within this sector.

ETHICS COMMITTEE APPROVAL

* This study does not require Ethics Committee Approval.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Cajiao X. Colombia and medical tourism. *Voices in Bioethics*, 2023;9.
2. Habibi A, Mousavi M, Jamali S, Ebrahim N. A bibliometric study of medical tourism. *Anatolia*, 2021;33(3):415-25.
3. Zhong L, Deng B, Morrison A, Coca-Stefaniak J. Medical, health and wellness tourism research—a review of the literature (1970-2020) and research agenda. *Int J Environ Res Pub Health*, 2021;18(20):10875.
4. Vovk V, Beztesna L, Pliashko O. Identification of factors for the development of medical tourism in the world. *Int J Environ Res Pub Health*, 2021;18(21):11205.
5. Xu Q, Purushothaman V, Cuomo R, Mackey T. A bilingual systematic review of south korean medical tourism: a need to rethink policy and priorities for public health?. *BMC Pub Health*, 2021;21(1).
6. Vijaya R. Medical tourism: revenue generation or international transfer of healthcare problems?. *J Eco Issue*, 2010;44(1):53-70.
7. Johnston R, Crooks V, Snyder J. “I didn’t even know what I was looking for”: a qualitative study of the decision-making processes of Canadian medical tourists. *Globalization Health*, 2012; 8(1):23.
8. Cerón A, Crooks V, Labonté R, Snyder J, Flores W. Medical tourism in Guatemala: qualitatively exploring how existing health system inequities facilitate sector development. *Int J Health Serv*, 2019; 49(4): 754-72.
9. Johnston R, Crooks V, Snyder J, Kingsbury P. What is known about the effects of medical tourism in destination and departure countries? a scoping review. *Int J Equity Health*, 2010;9(1):24.
10. Johnston R, Crooks V, Cerón A, Labonté R, Snyder J, Núñez E, et al. Providers’ perspectives on inbound medical tourism in Central America and the Caribbean: factors driving and inhibiting sector development and their health equity implications. *Glob Health Act*, 2016;9(1):32760.
11. Beladi H, Chao C, Ee M, Hollas D. Does medical tourism promote economic growth? a cross-country analysis. *J Travel Res*, 2017;58(1):121-35.
12. Loh C. Trends and structural shifts in health tourism: evidence from seasonal time-series data on health-related travel spending by Canada during 1970-2010. *Social Sci Med*, 2015;132:173-80.
13. Behmane D, Rutitis D, Batraga A. A conceptual framework for attracting foreign patients to health care services. In: *Eurasian Business and Economics Perspectives: Proceedings of the 32nd Eurasia Bus Econom Society Conf*, 2021:259-75.
14. Appollo M, Wengel Y, Schänzel H, Musa G. Hinduism, ecological conservation, and public health: What are the health hazards for religious tourists at Hindu temples? *Religions*, 2020;11(8): 416.
15. Rasethuntsa B. Health and hygiene strategies for tourism promotion: Guidelines for Africa. *J Tourism Leisure Hospi* 2022;4(2):8.
16. Dikmen D, Irmak H. European Union approach in monitoring drinking water quality: Emergency case management and risk analysis for the protection of public health. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2016;73(3), 271-78.
17. Zhong X, Wang DL, Xiao LH, Mo LF, Wu QF, Chen YW, et al. Comparison of two electronic hand hygiene monitoring systems in promoting hand hygiene of healthcare workers in the intensive care unit. *BMC Infect Dis*, 2021;21:1-10.

18. Musfirah M, Rangkuti AF, Khotimah FN. Factors influencing hand washing with soap compliance level among beach tourism workers. *Int J Pub Health*, 2022;11(4):1391-8.
19. Niyonzima V, Luwaga R, Beinempaka F. Enablers and Barriers to Hand Hygiene among Health Workers at Mbarara Regional Referral Hospital. *J Health Med Nursing*, 2023;9(2):54-63.
20. Tyagi M, Hanson C, Schellenberg J, Chamarty S, Singh S. Hand hygiene in hospitals: an observational study in hospitals from two southern states of India. *BMC Pub Health*, 2018;18:1-9.
21. Negara NLGAM, Suandari PVL. CHSE Rafting Guide Implementation Analysis in the New Normal Era on Payung Rafting Tourism Object. *Babali Nursing Res*, 2022; 3(3):168-75.
22. Fachryandini N, Imanin, SN, Heriqbaldi AZ, Widati FW. Level of knowledge regarding COVID-19 health protocols in the tourism sector in Taro village before and after counseling. *World J Advance Res Rev*, 2022;13(1):86-91.
23. Bilici, F. Tüketim Psikolojisi ve Pazarlama: Güncel Trendler. Bursa: Ekin Yayınevi, 2024:16.

Helmintlerin ve artropodların demonstrasyonunda yeni preparat hazırlama tekniği: Epoksi reçinesi

New slide preparation technique for demonstration of helminths and arthropods: Epoxy resin

Alican BİLDEN¹ (ID), Merve KAHRAMAN¹ (ID), Nadia İBRAHİM KAMİL KAMİL¹ (ID),
Gülşah ÖZKULA¹ (ID), Muttalip ÇİÇEK¹ (ID)

ÖZET

Amaç: Helmintlerin ve artropodların kalıcı preparat haline getirilmesi, hem araştırma hem de eğitim amaçlı kullanımı açısından büyük önem taşımaktadır. Bu işlemin basit ve uygulanabilir olması, hazırlanan preparatların uzun süre korunmasına olanak tanır. Kalıcı preparatların kalitesini ve dayanıklılığını artırmak amacıyla gliserin jeli, entellan ve Kanada balsamı gibi güçlü yapıştırıcılar yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, bu geleneksel montaj ortamları zamanla sararma, kırılganlık, neme duyarlılık ve uzun sertleşme süreleri gibi çeşitli sınırlılıklar içermektedir. Bu çalışmanın amacı, helmint ve artropodların epoksi reçinesine gömülmesi tekniğinin kalite, dayanıklılık ve etkinliğini değerlendirmek, geleneksel yöntemlere kıyasla sağladığı avantajları belirlemektir.

Yöntem: Laboratuvar ortamında sülük (*Hirudo* sp.), *Fasciola* sp., *Taenia* sp., *Enterobius vermicularis*; artropodlardan sert kene (*Ixodidae*), redüvid (*Reduviidae*), *Anopheles* sp. gibi türler epoksi reçinesi kullanılarak kalıcı hale getirilmiştir. Örnekler, öncelikle uygun fiksasyon ve dehidrasyon işlemlerinden geçirilmiş,

ABSTRACT

Objective: The permanent preparation of helminths and arthropods is of great importance for both research and educational purposes. The simplicity and applicability of this process ensures long-term preservation of the preparations. Strong adhesives such as glycerin gel, entellan and Canada balsam are widely used to increase the quality and durability of permanent preparations. However, these traditional mounting media have various limitations such as yellowing over time, brittleness, moisture sensitivity and long hardening times. The aim of this study is to evaluate the quality, durability and effectiveness of the helminths and arthropods embedding technique in epoxy resin and to determine its advantages compared to traditional methods.

Methods: In the laboratory environment, species such as leeches (*Hirudo* sp.), *Fasciola* sp., *Taenia* sp., *Enterobius vermicularis*; arthropods such as hard ticks (*Ixodidae*), *Reduviidae*, *Anopheles* sp. were made permanent using epoxy resin. The samples were first subjected to appropriate fixation and dehydration

¹Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD., Kırşehir, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Alican BİLDEN

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji AD., Kırşehir - Türkiye

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

Geliş Tarihi / Received : 07.03.2025

Kabul Tarihi / Accepted : 05.05.2025

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2025.32067

Bilden A, Kahraman M, Kamil Kamil İbrahim N, Özkula G, Çiçek M. Helmintlerin ve artropodların demonstrasyonunda yeni preparat hazırlama tekniği: Epoksi reçinesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2025; 82(2): 303 - 310

ardından dikkatli bir şekilde pozisyonlandırılarak epoksi reçinesi içerisine gömülmüştür. Uygulanan yöntem, parazitlerin morfolojik bütünlüğünü ve üç boyutlu yapısını koruyacak şekilde optimize edilmiştir.

Bulgular: Epoksi reçinesi, yüksek optik şeffaflık, üstün mekanik dayanıklılık, üç boyutlu preparat oluşturma yeteneği ve parazitlerin ince morfolojik detaylarını uzun süre koruma kapasitesi gibi önemli avantajlar sunmuştur. Çalışmada hazırlanan preparatların fiziksel yapıları bozulmadan ve optik özellikleri kaybolmadan uzun süre stabil kaldığı gözlemlenmiştir. Geleneksel yöntemlerle karşılaştırıldığında, epoksi reçinesinin, çevresel faktörlere karşı daha dirençli ve zamanla deformasyona uğramayan bir yapı sağladığı belirlenmiştir.

Sonuç: Epoksi reçinesi, hem helmintler hem de artropodlar için yüksek montaj kalitesi sağlayan, hızlı ve pratik bir teknik olarak değerlendirilmiştir. Sağladığı optik berraklık, mekanik dayanıklılık ve yapısal bütünlüğü uzun süre koruma kapasitesi sayesinde, bu yöntem uzun vadeli örnek saklama ve mikroskopik inceleme açısından umut verici bir alternatif olarak öne çıkmaktadır. Epoksi reçinesinin eğitim ve araştırma amaçlı kullanımı, parazitoloji laboratuvarları için değerli bir katkı sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Artropodlar, epoksi reçinesi, helmintler, kalıcı preparat, montaj teknikleri

processes, then carefully positioned and embedded in epoxy resin. The applied method was optimized to preserve the morphological integrity and three-dimensional structure of the parasites.

Results: Epoxy resin has offered significant advantages such as high optical transparency, superior mechanical strength, the ability to create three-dimensional preparations and the capacity to preserve fine morphological details of parasites for a long time. It was observed that the preparations prepared in the study remained stable for a long time without deteriorating their physical structures and losing their optical properties. Compared to traditional methods, epoxy resin was found to provide a structure that is more resistant to environmental factors and does not deform over time.

Conclusion: Epoxy resin has been evaluated as a fast and practical technique that provides high mounting quality for both helminths and arthropods. Its ability to maintain optical clarity, mechanical durability, and structural integrity over time makes this method a promising alternative for long-term specimen preservation and microscopic examination. The use of epoxy resin for educational and research purposes offers a valuable contribution to parasitology laboratories.

Key Words: Arthropods, epoxy resin, helminths, permanent preparation, mounting techniques

GİRİŞ

Parazitler, insan sağlığı üzerinde önemli etkileri olan mikroorganizmalardır. Patojen parazitler, konak organizmada çeşitli enfeksiyonlara yol açarak bireysel hastalıklardan geniş çaplı salgınlara kadar değişen ciddi halk sağlığı sorunlarına neden olabilmektedirler (1). Bu durum, özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygın olup, dünya genelinde sağlık sistemleri üzerinde büyük bir yük oluşturmaktadır (2). Paraziter hastalıkların kontrol altına alınabilmesi

için tanı, tedavi ve mücadele stratejilerinin etkin bir şekilde uygulanması gerekmektedir. Bu durumda, parazitleri doğru teşhis etmek büyük önem taşırken uzun süreli gözlem ve araştırmalar için iyi korunmuş kalıcı preparatlara ihtiyaç duyulmaktadır (3). Kalıcı preparatlar, parazitlerin yıkanması, fiksasyonu, boyanması ve monte edilmesi gibi temel adımları içermektedir (4). Ancak, parazitlerin türü, büyüklüğü ve yapısal özelliklerine bağlı olarak bu adımlar değişkenlik gösterebilir (5). Protozoonlar, helmintler ve artropodlar gibi farklı parazit grupları

için uygun fiksatifler, boyalar ve montaj yöntemleri seçilmelidir (6). Özellikle helmintler gibi yumuşak dokulu organizmaların uzun süre korunabilmesi için uygun fiksasyon ve montaj tekniklerinin kullanılması büyük önem taşımaktadır (7-8). Örneğin, artropodlar, genellikle kurutularak ve özel iğnelerle sabitlenerek koleksiyon haline getirilmektedir (9). Ancak, uygun olmayan korunma koşulları (nem, sıcaklık değişiklikleri), çevresel kontaminasyon ve biyolojik faktörler (örneğin, küf ve böcek istilası) koleksiyonlardaki örneklerin zamanla bozulmasına neden olabilmektedir (10). Artan örnek sayısına bağlı olarak düzenli bakımın sağlanamaması da bu bozulmayı hızlandıran etkenler arasındadır (11).

Parazitoloji alanında epoksi reçineleri, parazitlerin uzun süreli stabilizasyonu, ince kesitlerin hazırlanması ve mikroskopik gözlemlerin kolaylaştırılması amacıyla kullanılmaya başlanmıştır (6). Parazitoloji laboratuvarlarında koruma ve kalıcı montaj işlemleri için yaygın olarak entellan, formaldehit, alkol, kanada balsamı ve gliserin jeli gibi kimyasallar kullanılmaktadır (5). Ancak, bu geleneksel yöntemlerin bazı dezavantajları bulunmaktadır. Örneğin, formaldehitin toksik yapısı hem laboratuvar personeli için sağlık riski oluşturmakta hem de uzun süreli temas halinde örneklerde doku sertleşmesine yol açabilmektedir. Alkol bazlı fiksatifler ise zamanla numunelerde büzüşmeye neden olmakta; bu durum, parazitin doğal morfolojisinin bozulmasına ve tanısal hatalara neden olabilmektedir. Epoksi reçinesi ise bu sınırlamaların büyük bir kısmını ortadan kaldırmaktadır. Epoksi reçineleri, yüksek mekanik dayanıklılık, düşük büzüşme oranı ve uzun süreli yapısal stabilite sağlamaları sayesinde parazit preparatlarının korunmasında etkili bir alternatif oluşturmaktadır (12). Ayrıca, bu reçineler mikroskopik incelemeye uygun şeffaf bir yapı sunarak, histolojik ve morfolojik analizlerde örneklerin detaylı gözlemlenmesine olanak tanımaktadır (13).

Bu çalışmada, uygulanması kolay, düşük maliyetli ve uzun süre stabilite sağlayan yeni bir teknik olan, parazitlerin epoksi reçinesine gömülmesi yöntemi

ile kalıcı preparat oluşturulması amaçlanmıştır. Ayrıca, bu yeni tekniğin, geleneksel yöntemlerle karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi ve epoksi reçinesi ile hazırlanmış preparatların stabilitesi, optik özellikleri ve uzun vadeli koruma performansının analiz edilmesi çalışmanın ana hedefleri arasındadır. Bu teknik, parazitlerin morfolojik yapısını uzun süre koruyarak eğitim, araştırma ve tanı süreçlerinde güvenilir bir alternatif sunabileceğini düşünmekteyiz.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, epoksi reçinesi kullanılarak bazı helmint ve artropodların kalıcı preparatlarının hazırlanması amaçlanmıştır. Çalışmada laboratuvar ortamında helmintlerden sülük (*Hirudo* sp.), *Fasciola* sp., *Taenia* sp., *Enterobius vermicularis*; artropodlardan ise sert kene (*Ixodidae*), redüvid (*Reduviidae*) ve *Anopheles* sp. türleri kullanılmıştır. Örnekler, biyogüvenlik kurallarına uygun olarak işlenmiş; tüm işlemler sırasında sterilizasyon koşullarına özen gösterilmiştir. Parazitlerin epoksi reçinesi içerisine gömülerek kalıcı preparat haline getirilme süreci, önceden belirlenmiş standart protokole uygun biçimde gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada yalnızca tıbbi öneme sahip parazitlere değil, aynı zamanda doğrudan patojen olmayan ancak yapısal açıdan farklı morfolojik özellikler sergileyen organizmalara da yer verilmiştir. Çalışmanın temel amacı, yalnızca belirli parazit türlerinin kalıcı preparat haline getirilmesini göstermek değil; aynı zamanda epoksi reçinesi kullanılarak hazırlanan preparatların demonstrasyon amaçlı kullanılabilirliğini, üç boyutlu yapıları sergileme kapasitesini ve morfolojik bütünlüğü koruma yeteneğini değerlendirmektir. Bu doğrultuda, tıbbi açıdan doğrudan önemi bulunmayan ancak farklı doku yapıları, segmentasyon örüntüleri ve dış iskelet özellikleri ile dikkat çeken Diken Kelebeği (*Vanessa cardui*), Kulağakaçan (*Forficula auricularia*) ve Assassin Bug (*Reduviidae*) gibi

organizmalar da örnek çeşitliliğini sağlamak ve epoksinin farklı biyolojik yapılar üzerindeki etkisini göstermek amacıyla çalışmaya dahil edilmiştir. Bu türlerin kullanımı, özellikle eğitim ortamlarında parazitoloji dışı biyolojik yapıların da epoksi reçinesi içinde nasıl korunabileceğini göstermesi açısından model organizma işlevi görmüştür.

Ayrıca çalışmada kullanılan sülük (*Hirudo* sp.), zaman zaman tıbbi öneme sahip hematofag özelliği nedeniyle dikkate alınmakla birlikte, filogenetik olarak helmintlerden farklı bir grup olan Annelida (halkalı solucanlar) şubesine aittir. Bu bağlamda sülük, helmint olarak sınıflandırılmasa da, yumuşak dokulu yapısının epoksi reçinesi içinde korunabilirliğinin değerlendirilmesi amacıyla çalışmaya dahil edilmiştir.

Kullanılan Kimyasallar ve Malzemeler

- Epoksi Reçinesi: Ticari olarak satılan epoksi reçinesi ve sertleştirici madde kullanılmıştır.
- Sertleştirici Madde: Epoksi reçinesi ile belirli oranlarda karıştırılarak kullanılmaktadır.
- Silikon Buz Kalıpları: Epoksi reçinesinin kalıplandırılmasında tercih edilmiştir.
- Tahta Karıştırıcı: Epoksi reçinesi ve sertleştirici madde karışımında kullanılmıştır.
- Pens (Mikropensetler): Parazitlerin epoksi içinde pozisyonlandırılması için kullanılmıştır.
- Isı Kaynağı (Çakmak/Isıtıcı Cihaz): Epoksi içinde oluşan hava kabarcıklarının giderilmesi için kullanılmıştır.

Epoksi Reçinesi Hazırlama

Epoksi reçinesi ve sertleştirici madde, 2:1 oranında hassas terazide tartılarak hazırlanmıştır. Karışımın hacmi, parazitin büyüklüğüne göre belirlenmiş ve uygun miktarlarda ayarlanmıştır. Reçine ve sertleştirici madde bir behere alınarak, tahta kaşık yardımıyla yavaşça karıştırılmış ve homojen bir kıvama gelmesi sağlanmıştır. Karışımın içindeki hava kabarcıklarının çökmesi için oda sıcaklığında yaklaşık 15 dakika bekletilmiştir.

Epoksi Kalıplama Tekniği

Hazırlanan epoksi reçinesi, silikon buz kalıplarının yarısını dolduracak şekilde dökülmüştür. İlk döküm sonrası oluşan baloncuklar, çakmak gibi bir ısı kaynağı kullanılarak giderilmiştir. Reçinenin sertleşmesi için oda sıcaklığında yaklaşık bir saat bekletilmiştir.

Helmint ve Artropod Örneklerinin Montajı

Helmint ve artropod örnekleri, havlu kâğıt ile tamamen kurutulduktan sonra bir saat boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Kuruyan örnekler, önceden yarı katı hale gelmiş epoksi reçinesinin üzerine pens yardımıyla yerleştirilerek uygun pozisyon verilmiştir. Örnekler tamamen gömülecek şekilde üst kısım jel benzeri epoksi ile kaplanmış ve kabarcık oluşumunu engellemek için ısı kaynağı kullanılarak hava kabarcıkları giderilmiştir. Kalıplar, en az 24 saat boyunca oda sıcaklığında tamamen sertleşmeye bırakılmıştır. Süre sonunda sertleşen epoksi reçinesi kalıptan çıkarılarak analiz için hazır hale getirilmiştir.

BULGULAR

Çalışmada, helmint ve artropodların epoksi reçinesi içinde kalıcı preparat haline getirilmesi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Epoksi reçineleri, numunelerin optik şeffaflığını koruyarak mikroskopik incelemeye uygun bir yapı sağlamıştır. Aynı zamanda mekanik dayanıklılığı artırarak, numunelerin uzun süre korunmasına olanak tanımıştır. Epoksi reçinesine gömülen helmint ve artropodların orijinal morfolojik özelliklerini muhafaza ettiği ve uzun vadeli saklama açısından stabil kaldığı gözlemlenmiştir. Örnekler, hem üç boyutlu olarak incelenebilir hale gelmiş hem de geleneksel yöntemlere kıyasla daha az deformasyon göstermiştir.

Çalışmada kullanılan ve epoksi içinde stabil hale getirilen helmint ve artropod türleri aşağıda listelenmiştir (Şekil 1):

Sert kene (*Ixodidae*): Eklem bacaklı olup, vektör potansiyeline sahip türlerden biridir.

Diken Kelebeği (*Vanessa cardui*): Epoksi içinde kanat yapısı korunmuş olup, ince tüylenme ve damarlanma detayları gözlemlenmiştir.

Kulağakaçan (*Forficula auricularia*): Vücut yapısı ve anten morfolojisi stabil kalmış, segmentasyon detayları korunmuştur.

Assassin Bug (*Rhinocoris sp.* veya *Reduvius sp.*): Avcı özellikleri ile bilinen bu türün ağız parçaları ve bacak segmentleri net bir şekilde muhafaza edilmiştir.

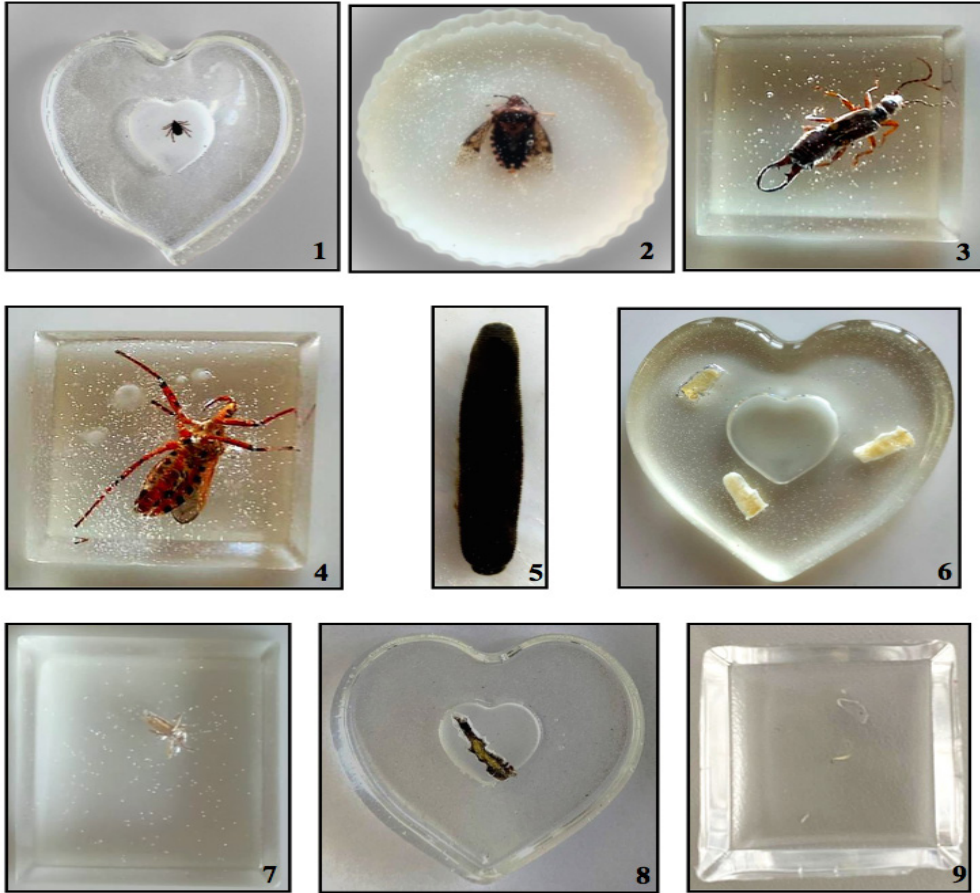
Sülük (*Hirudo sp.*): Yumuşak doku yapısı korunarak, iç ve dış morfolojisinin uzun süre incelenmesine olanak sağlamıştır.

***Taenia sp.*:** Helmint yapısı deformasyona uğramadan sabitlenmiş, halkalanma ve segmentasyon belirgin bir şekilde gözlemlenmiştir.

***Anopheles sp.*:** Sivrisinek türü olup, epoksi içinde kanat zar yapıları ve bacak uzantıları bütünlüğünü korumuştur.

***Fasciola sp.*:** Helminth deformasyona uğramış bölümleri kolaylıkla gözlemlenmiştir.

***Enterobius vermicularis*:** Makroskobik olarak küçük olmasına rağmen net bir şekilde gözlemlenebilirliği sağlanmıştır.



Şekil 1. Çalışmada kullanılan epoksi içine gömülmüş parazit ve arthropod örneklerini göstermektedir. Farklı şekil ve boyutlardaki epoksi kalıplarına gömülen örnekler, morfolojik bütünlüklerini kaybetmeden saklanabilmiş ve tanımlama için uygun bir hale gelmiştir. 1. Sert kene (*Ixodidae*); 2. Diken Kelebeği (Painted Lady, *Vanessa cardui*); 3. Kulağakaçan (*Forficula auricularia*); 4. Assassin Bug (*Rhinocoris sp.* veya *Reduvius sp.*); 5. Sülük (*Hirudo sp.*); 6. *Taenia sp.*; 7. *Anopheles sp.*; 8. *Fasciola sp.*; 9. *Enterobius vermicularis*

TARTIŞMA

Parazitlerin detaylı bir şekilde incelenmesi ve doğru tanımlanması, parazitoloji alanında büyük bir öneme sahiptir. Bu nedenle, parazitlerin kalıcı preparat haline getirilmesi gereklidir. Kalıcı preparatların hazırlanmasında ilk basamak, fiksasyon işlemidir. Parazitlerin uzun süre dayanıklı bir formda kalabilmesi için uygun fiksasyon yöntemleri ile sabitlenmesi gerekmektedir. Fiksasyon işlemi için formalin, Schaudinn solüsyonu, MİF (Mertiyolat-İyodin-Formalin), SAF (Sodyum Asetat-Asetik Asit-Formalin) ve AFA (Alkol-Formalin-Asetik Asit) gibi kimyasal ajanlar yaygın olarak kullanılmaktadır (14). Küçük trematodlar ve sestodlar için AFA solüsyonu, büyük trematodlar için ise %70'lik etil alkol daha uygun bir fiksatif olarak kabul edilmektedir. Nematodların fiksasyonu için ise glasiyal asetik asit ve sıcak etil alkol kombinasyonları önerilmektedir (15). Ancak, formalin ile yapılan uzun süreli fiksasyonun bazı dezavantajları bulunmaktadır. Özellikle, uzun süre formaldehit içinde bekleyen parazitler sertleşebilir, elastikiyetlerini kaybedebilir ve kırılgan hale gelebilir. Ayrıca, *Fasciola* gibi kalın yapıli helmintlerin iç kısımlarına formalinin yeterince penetre olmaması, fiksasyonun tam olarak gerçekleşmesini engelleyebilir (16). Bu çalışmada, formolde korunan helmint ve artropodların kalıcı preparatlarının hazırlanması için, kasılmış durumdaki parazitler, %70'lik etil alkol içinde gevşetilerek uygun hale getirilmiştir.

Parazitoloji laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılan montaj malzemeleri arasında entellan, kanada balsamı ve gliserin jeli bulunmaktadır. Kanada balsamı, optik özelliklerinin zamanla bozulmaması gibi avantajlara sahip olsa da, alkol ile dehidratasyon sonrası ksilen kullanımının gerekliliği, preparatın zamanla sararması ve sertleşme sürecinin uzun olması gibi dezavantajları bulunmaktadır (17). Entellan, hızlı sertleşmesi açısından avantaj sağlasa da, üç boyutlu yapılar için kırılgan olması önemli bir sınırlılıktır. Gliserin jeli ise su bazlı bir montaj malzemesi olduğu

için, alkol ile dehidratasyon gerektirmemesi avantaj sağlarken, jel yapısının toksik içeriği ve montaj işleminin zorluğu gibi dezavantajlara sahiptir (5).

Bu çalışmada kullanılan epoksi reçinesi, geleneksel montaj tekniklerine kıyasla önemli avantajlar sunmaktadır. Epoksi reçinesi ve sertleştirici madde karışımı, kimyasal reaksiyon sonucu güçlü bir bağ oluşturarak, yüksek mekanik dayanıklılık, suya direnç ve optik şeffaflık sağlamaktadır (15). Epoksi reçinesinin kullanımı, helmintlerin ve artropodların doğal morfolojik yapısını uzun süre korumasına olanak tanımaktadır. Bu yöntem, parazitlerin uzun süre bozulmadan saklanmasını, optik şeffaflığını korumasını ve yüksek mekanik mukavemet kazanmasını sağlamıştır. Aynı zamanda, sıcaklık ve nem gibi dış etkenlere karşı dayanıklılık kazandırarak, fiziksel ve kimyasal faktörlere karşı direnç oluşturmuştur.

Epoksi reçinesi ile kalıcı preparat oluşturulurken dikkat edilmesi gereken bazı hususlar belirlenmiştir. Öncelikle, epoksi reçinesinin sertleşme süreci preparatın kalitesini doğrudan etkilemektedir. Reçinenin fazla bekletilmesi halinde sertleşmesi hızlanacağından, ısı ile eski haline döndürülmesi mümkün olmamaktadır. Bu nedenle, ilk katmanın tamamen donması beklenmeden üzerine ikinci katmanın eklenmesi, parazitlin çökmesini engellemiştir. Ayrıca, sertleşme tamamlandıktan sonra epoksi reçinesinin kalıptan çıkarılması, preparatların üç boyutlu yapısının korunması açısından kritik bir aşamadır. Çalışmada epoksi reçinesine gömülen parazitler, uzun süre boyunca bozulmamış, berraklığını korumuş ve sararmamıştır. Epoksi, sıcaklık ve nem gibi dış etkenlere karşı mukavemet sağlamış, parazitlerin en ince detayına kadar korunmasına olanak tanımıştır. İnce dökümlerde epoksi reçinesinin mikroskopik detayları koruma kapasitesi, özellikle tür teşhisi ve laboratuvar içi veya laboratuvarlar arası örnek paylaşımı açısından önemli bir avantaj sunmuştur.

Epoksi ile hazırlanan preparatların eğitim amaçlı kullanımı da oldukça değerlidir. Özellikle tıp eğitimi

ve veteriner hekimlik alanlarında, teorik bilgilerin görselleştirilerek öğretilmesi, öğrenci öğrenimini güçlendirmektedir. Parazit preparatlarının uzun süre dayanıklı olması, öğretim materyallerinin sürdürülebilirliğine katkı sağlamaktadır. Ayrıca, epoksi reçinesi ile oluşturulan preparatlar, parazitoloji laboratuvarlarında nadir görülen türlerin korunmasını sağlayarak, gelecekteki araştırmalar için önemli bir referans kaynağı oluşturabilir (14).

Sonuç olarak, epoksi reçinesi ile hazırlanan kalıcı preparatlar, parazitoloji laboratuvarları için önemli bir yenilik sunmaktadır. Geleneksel montaj tekniklerine kıyasla daha uzun ömürlü, dayanıklı ve optik olarak şeffaf bir yapı sağlaması, bu yöntemi parazitolojik çalışmalar açısından sürdürülebilir ve uygulanabilir bir alternatif haline getirmiştir. Ayrıca, epoksi reçinesi kullanımı, biyolojik örneklerin korunmasına yönelik olarak farklı bilimsel disiplinlerde de uyarlanabilecek yenilikçi bir teknik olarak değerlendirilebilir.

Bu çalışma, epoksi reçinesi kullanılarak hazırlanan kalıcı preparatların avantajlarını ortaya koymakla birlikte bazı sınırlamalar içermektedir. Öncelikle, epoksi reçinesi ile hazırlanan preparatların uzun vadeli stabilitesi ve zamanla oluşabilecek fiziksel veya kimyasal değişimler henüz yeterince araştırılmamıştır. Ayrıca, kullanılan epoksi reçinesinin farklı parazit türleri üzerindeki etkileri detaylı olarak karşılaştırılmamış ve çeşitli parazit grupları için optimal reçine formülasyonları belirlenmemiştir. Bu çalışmada sınırlı sayıda helmint ve artropod türü kullanılmış olup, yöntemin farklı parazit türleri üzerindeki etkinliği geniş örneklem grupları ile değerlendirilmelidir. Gelecekte yapılacak çalışmaların, daha geniş tür yelpazesini kapsayacak şekilde epoksi reçinesinin uzun vadeli performansını ve biyolojik örnekler üzerindeki etkilerini araştırması faydalı olacaktır.

ETİK KURUL ONAYI

* Bu çalışma, Etik Kurul onayı ile gerektirmemektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Günbey F, Aşçı Toraman Z. Distribution of intestinal parasites in patients admitted to university hospital: Four year retrospective review. *Türkiye Parazitoloji Derg*, 2024;48(1):27-31.
2. Meamar AR, Kia EB, Zahabiun F, Jafari-mehr A, Moghadam A, Sadjjadi SM. The occurrence of severe infections with *Rhabditis axei* in AIDS patients in Iran. *J Helminthol*, 2007;81(4):351-2.
3. Zibaei M, Sadjjadi SM, Sarkari B. Prevalence of *Toxocara cati* and other intestinal helminths in stray cats in Shiraz, Iran. *Trop Biomed*, 2007;24(2):39-43.
4. Gökçen A. Helminthlerde tespit, boyama ve kalıcı preparat yapımı. *Türkiye Parazit Derg*, 2008;32(2):177-81.
5. Hooper DJ. Handling, fixing, staining and mounting nematodes. 1986
6. Sadjjadi SM. A polyvinyl alcohol (PVA)-containing medium for permanent mounting of helminth eggs. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2002;96(1):104.
7. Grewal PS, Richardson PN, Wright DJ. Effects of killing, fixing and mounting methods on taxonomic character of parthenogenetic adult female *Caenorhabditis elegans* (Nematoda: Rhabditidae). 1990.
8. Sepulveda MS, Kinsella JM. Helminth collection and identification from wildlife. *J Vis Exp JoVE*, 2013;(82):51000.
9. Bird AF. Further observations on the structure of nematode cuticle. *Parasitology*, 1958;48(1-2):32-7.
10. Ryss AY. Express technique to prepare permanent collection slides of nematodes. *Zoosystematica Ross*, 2003;11(2):257-60.
11. Kumagai M, Inaba T, Makioka A, Ishiwata K, Onishi K, Watanabe N. An improved glycerin-jelly mounting procedure for permanent preparations of helminth eggs. *J Parasitol*. 2010;96(2):440-1.
12. Zahabiun F, Sadjjadi SM, Esfandiari F. Development of a double glass mounting method using formaldehyde alcohol azocarmine lactophenol (FAAL) and its evaluation for permanent mounting of small nematodes. *Iran J Parasitol*, 2015;10(4):617.
13. Beraldo P, Pascotto E. Cryopreservation of roe deer abomasal nematodes for morphological identification. *Folia Parasitol*, 2014;61(1):76.
14. Mehlhorn H. Parasitology in focus. Facts and trends. 1988
15. Ash LR, Orihel TC. Atlas of human parasitology. 1981:184.
16. Smyth JD. Introduction to animal parasitology. 1976
17. Baker AD. Rapid method for mounting nematodes in glycerine1. *Can Entomol*, 1953;85(2):77-8.

Comparison of 16S rRNA sequencing methods for bacterial identification in clinical microbiology laboratories: Sanger sequencing vs. third-generation sequencing

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında bakteriyel tanımlama için 16S rRNA dizileme yöntemlerinin karşılaştırılması: Sanger dizilemesi ve üçüncü nesil dizileme

Süleyman YALÇIN¹ (ID), Ayşe Hande TÜRK¹ (ID), Hakan Farzin MEHMETZADE¹ (ID),
Safa Kerem AYDIN³ (ID), Ekrem SAĞTAŞ² (ID)

ABSTRACT

Objective: This study aims to evaluate and compare Sanger sequencing and third-generation 16S rRNA sequencing methods in terms of their ability to accurately identify various bacteria under identical primer sets and specific PCR conditions using four American Type Culture Collection (ATCC) strains. In this context, the capacity of each method was assessed to accurately and comprehensively identify bacteria from pure cultures, where the genus and species of the organisms are confirmed and known.

Methods: In the study, identical primer sets and PCR conditions were used to enable a comparison between the two sequencing methods. While eight primers targeting the 16S rRNA region were used in the Sanger sequencing method, only two primers were used for the same region in the third-generation 16S rRNA sequencing method. The raw data were analyzed using GeneStudio software for Sanger sequencing and an appropriate bioinformatics workflow for the third-generation 16S rRNA sequencing method.

ÖZET

Amaç: Bu çalışma, Sanger dizileme ve üçüncü nesil 16S rRNA sekanslama yöntemlerinin, aynı primer ve belirli PCR koşulları altında dört Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu (ATCC) suşu kullanılarak doğru şekilde bakterileri tanımlama yeteneklerini karşılaştırmalı olarak değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Bu bağlamda, her bir yöntemin, cins ve türleri önceden doğrulanmış ve bilinen saf kültürlerden bakterileri doğru ve kapsamlı bir şekilde tanımlama kapasitesi değerlendirilmiştir.

Yöntem: Çalışmada, iki farklı sekanslama yönteminin karşılaştırılabilmesi amacıyla aynı primer setleri ve PCR koşulları kullanılmıştır. Sanger dizileme yönteminde 16S rRNA bölgesini kapsayan sekiz primer kullanılırken üçüncü nesil 16S rRNA sekanslama yönteminde aynı bölge için 2 primer kullanılmıştır. Ham veriler, Sanger Dizilemede GeneStudio yazılımında, üçüncü nesil 16S rRNA sekanslama yönteminde ise uygun biyoinformatik iş akışı ile analiz edilmiştir.

¹General Directorate of Public Health, National Molecular Microbiology Reference Laboratory, Ankara, Türkiye

²General Directorate of Public Health, Department of Microbiology Reference Laboratories and Biological Products, Ankara, Türkiye

³Middle East Technical University, Department of Biological Sciences, Ankara, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Süleyman YALÇIN

HSGM, Sağlık Mahallesi Adnan Saygun Caddesi No: 55 Ankara - Türkiye

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

Geliş Tarihi / Received : 04.03.2025

Kabul Tarihi / Accepted : 13.05.2025

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2025.30806

Yalçın S, Türk AH, Mehmetzade HF, Aydın SK, Sağtaş E. Comparison of 16S rRNA sequencing methods for bacterial identification in clinical microbiology laboratories: Sanger sequencing vs. third-generation sequencing. Turk Hij Den Biyol Derg, 2025; 82(2): 311 - 322

Results: The analysis demonstrated that third-generation 16S rRNA sequencing outperforms Sanger sequencing in achieving comprehensive and efficient profiling of the full 16S rRNA region. Third-generation 16S sequencing reduces primer requirements, minimizes sequence loss in primer-binding regions, and significantly decreases processing time from days to hours, enabling rapid, high-throughput sequencing in a matter of minutes. In contrast, Sanger sequencing provides high single-read accuracy but falls short in terms of speed and efficiency, making it less suitable for broader applications.

Conclusion: This study highlights third-generation 16S sequencing as a faster, more comprehensive, and more effective option for high-resolution microbial investigations. While Sanger sequencing remains a valuable tool for certain scenarios due to its high single-read accuracy, its speed and depth limitations render it inadequate for broader applications. These findings emphasize the advantages of third-generation 16S sequencing in providing scientists with a reliable and thorough approach to characterizing microorganisms for various applications.

Key Words: Third-generation sequencing, 16S sequencing, sanger sequencing, microbial profiling, sequencing method comparison

Bulgular: Analiz sonuçları, üçüncü nesil 16S rRNA sekanslama yönteminin Sanger dizilemeden daha kapsamlı ve verimli bir şekilde tam 16S rRNA bölgesini profilleyeabildiğini göstermiştir. Üçüncü nesil 16S sekanslama yöntemi, primer gereksinimlerini azalttığı ve primer bağlanma bölgelerinde dizi kaybını en aza indirdiği gibi, işlem süresini günlerden saatlere düşürerek dakikalar içinde hızlı, yüksek verimli dizileme olanağı tanımaktadır. Buna karşın, Sanger dizilemenin tek okuma doğruluğu yüksek olmasına rağmen, uzun işlem süresi ve düşük verimliliği nedeniyle geniş kapsamlı uygulamalar için daha az uygun olduğu belirlenmiştir.

Sonuç: Bu çalışma, üçüncü nesil 16S sekanslama yönteminin yüksek çözünürlüklü mikrobiyal analizler için daha hızlı, daha kapsamlı ve daha etkili bir seçenek olduğunu ortaya koymaktadır. Sanger dizileme, yüksek tek-okuma doğruluğu sayesinde belirli durumlarda hâlâ değerli bir araç olarak kabul edilse de, yavaşlığı ve sınırlı kapsama alanı nedeniyle daha geniş uygulamalar için yetersiz kalmaktadır. Elde edilen bulgular, üçüncü nesil 16S sekanslama yönteminin mikroorganizmaların karakterizasyonunda güvenilir ve ayrıntılı bir yaklaşım sunduğunu vurgulamakta ve çeşitli mikrobiyal uygulamalarda sağladığı avantajlara dikkat çekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Üçüncü nesil sekanslama, 16S sekanslama, sanger sekanslama, mikrobiyal profilleme, sekanslama yöntemlerinin karşılaştırılması

INTRODUCTION

The 16S ribosomal RNA (rRNA) gene, found in all bacterial and archaeal genomes, is an ideal target for bacterial identification (1). This gene encodes the rRNA component of the ribosome, essential for protein synthesis, and contains both variable and conserved regions (2). While the variable regions provide the necessary sequence diversity to distinguish between different species or even strains, the conserved regions enable the design of universal primers that

can amplify the 16S rRNA gene across a wide range of bacteria (3). 16S rRNA gene is commonly referred to as a “barcode gene” for bacterial identification due to its ability to classify and identify various bacterial species in ambient or mixed samples (4).

The identification of bacteria begins with morphological characterization, where colony morphology, Gram staining, and cellular structure are analyzed to determine preliminary classifications. This step is followed by biochemical assays, which assess metabolic and enzymatic activity to differentiate

bacterial species based on their phenotypic traits. MALDI-TOF mass spectrometry, which analyzes protein mass spectra, has largely replaced traditional biochemical tests for the precise and rapid identification of microorganisms. By leveraging protein profiling, it compares unique spectra to extensive microbial databases, offering high accuracy and efficiency (5). Molecular techniques such as polymerase chain reaction (PCR) are essential for identifying variants and verifying the identity of bacteria by distinguishing closely related species, identifying genetic variants, and validating the outcomes of biochemical or protein-based techniques through the detection of specific genetic markers or mutations. Consequently, PCR is a vital tool in clinical microbiology, especially when high specificity and sensitivity are required (6).

Advances in sequencing technologies have changed the study of microbial communities, enabling instruments for increasingly comprehensive insights into microbial diversity, composition, and functional potential (7). Sanger sequencing, introduced in 1977, marked a significant milestone in sequencing history and quickly became the most common method for DNA sequencing due to its high base-pair accuracy (8). This method, based on chain-termination principles, comprises stepwise synthesis and detection of individual bases, delivering dependable findings for single-gene targets in isolated samples (9). While highly accurate, Sanger sequencing is fundamentally limited by its lower throughput and extended run times, making it less suited for complex, diverse microbial communities or for cases requiring in-depth metagenomic analysis (10). It is primarily restricted to sequencing individual, cloned genes from isolated organisms, which can be valuable for targeted investigations. However, this approach proves inadequate for broader applications that require profiling multiple species within mixed microbial populations (11).

Unlike conventional short-read based next-generation sequencing techniques, third-generation sequencing is an advanced NGS technology that has significantly enhanced the capacity to generate long-

read sequences. While Sanger sequencing can produce reads exceeding 850 bases under optimal conditions, third-generation sequencing offers even longer read lengths, providing advantages in comprehensive microbial profiling (12). Third-generation sequencing systems can provide reads that range thousands to millions of base pairs in length, whereas short-read platforms like Illumina typically produce reads between 100 and 300 base pairs. (13). This extended read length provides significant benefits for resolving complicated genomic sections, assembling genomes, and eliminating ambiguities in sequence interpretation. (14). Third-generation sequencing technologies determine the DNA sequence by monitoring changes in electrical current as the DNA strand spans through a nanopore or detecting fluorescence signals linked with the DNA (15). Third-generation sequencing technology is particularly useful for complex metagenomic, transcriptomic, and genomic studies because it can capture long contiguous sequences in a single read, allowing for full-length gene sequencing, structural variation identification, and more precise mapping of genomic features (16).

Third-generation 16S sequencing, has emerged as a game-changing tool in microbial research, collecting both conserved and hypervariable portions of the 16S rRNA gene. Sanger sequencing frequently needs numerous primers for complete 16S coverage, but third-generation sequencing may sequence large portions of the 16S gene in a single read, minimizing sequence loss at primer sites and requiring only two primers. (17). This feature, combined with third-generation sequencing capacity for high-throughput sequencing targeting full-length 16S genes, enhances resolution and accuracy in microbial profiling. As a result, third-generation sequencing is particularly valuable for metagenomic research and diagnostic applications, where quick and high-resolution microbial identification is crucial (18) (19).

This study aims to evaluate and compare the efficiency, accuracy, and applicability of Sanger sequencing and third-generation 16S rRNA sequencing

for bacterial identification under identical experimental conditions. The hypothesis of this study is that third-generation 16S sequencing offers a more comprehensive and efficient method for bacterial identification compared to Sanger sequencing, due to its ability to sequence the full 16S rRNA region in a single read with minimal primer requirements and reduced sequence loss at primer-binding sites. This study provides critical insights into the effectiveness and suitability of both methods for microbial profiling in clinical and research environments, by evaluating their performance in terms of sequencing depth, error rates, and practical applicability.

MATERIAL and METHOD

Bacterial Isolates

In this study, the bacterial strains used were *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 25955, and *Escherichia coli* ATCC 25922. Each isolate was cultured by inoculation onto Tryptic Soy Agar (TSA) plates and incubated overnight at 37 °C to ensure optimal growth and viability prior to further analysis. These standard reference strains were selected from the American Type Culture Collection (ATCC) to provide consistent and well-characterized microbial samples for reliable comparative analysis.

DNA Extraction

A loopful bacterial colony was transferred to 1 mL of Phosphate Buffered Saline (PBS) and thoroughly homogenized. DNA extraction was performed using the EZ1 Advanced XL system (Qiagen) with the EZ1 DNA Tissue Kit (Qiagen) coupled with EZ1 Advanced XL DNA Bacteria Card, optimized for efficient bacterial DNA recovery. The concentration of extracted bacterial DNA was then measured with the Qubit Flex Fluorometer (Invitrogen) using the Qubit dsDNA High Sensitivity (HS) Assay Kit (Invitrogen) to ensure precise quantification. The DNA concentrations obtained from bacterial species are as follows: the

DNA concentration of *S. aureus* ATCC 25923 was 14.7 ng/μL, *P. aeruginosa* ATCC 27853 had 30.2 ng/μL, *K. pneumoniae* ATCC 25955 had 35.2 ng/μL, and *E. coli* ATCC 25922 showed 18.1 ng/μL.

Amplification of 16S rRNA Region

To achieve broad microbiological representation, the 27F and 1492R primers were used to perform the first amplification of the 16S rRNA region following the given protocol and conditions. For the PCR reaction mix used in 16S rRNA amplification, it consisted of 5 μL Phanta Max Master Mix, 1 μL of 16S Primer Mix (10 μM each), x μL of DNA (10 ng), and water was added to complete the volume to a total of 10 μL. The 16S rRNA amplification protocol involved an initial denaturation step at 95 °C for 30 seconds. The amplification consisted of 35 cycles, each including 20 seconds at 95 °C, 1 minute at 58 °C, and 2 minutes at 72 °C. After amplification, a final extension step was carried out at 72 °C for 10 minutes, followed by holding at 4 °C. This main PCR process produced a consistent 16S amplicon product that was employed as a precursor for both sequencing technologies, standardizing the starting material for downstream comparative analysis of Sanger sequencing and 16S third-generation sequencing. The generated PCR product was the same for both procedures, allowing for direct comparison by limiting variability introduced during sample preparation and evaluating each method's performance on the same amplified target region.

Agarose Gel Electrophoresis

1.5% agarose gel electrophoresis was used to examine the amplified products after the 16S rRNA gene was amplified using PCR. A Thermo Scientific GeneRuler 1 kb Plus DNA Ladder was utilized as the molecular weight marker after DNA fragments were separated by electrophoresis. Successful amplification was confirmed by the amplified 16S rRNA gene's predicted band size of about 1500 base pairs (bp).

Sanger Sequencing

PCR Purification

The Mag PCR Clean-Up Kit was used to purify the PCR products in order to eliminate extra primers, nucleotides, and other impurities. Only high-quality, amplified DNA is used in future sequencing processes thanks to this purification procedure.

Cycle Sequencing Reaction

To amplify the 16S rRNA region, we used eight primers targeting V1-V9 regions within the bacterial 16S rRNA gene: 27F, 355F, 515R, 533F, 787R, 930F, 1391R, and 1492R. Each primer was designed to bind to specific regions within the 16S rRNA gene (20).

The sequences, binding locations, and specificities of each primer are as follows:

- 27F (5'-AGAGTTTGATYMTGGCTCAG-3'): Binds at positions 8-27; targets most bacterial species.
- 355F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGC-3'): Binds at positions 338-355; designed for general bacterial specificity.
- 515R (5'-TTACCGCGGCKGCTGGCAC-3'): Binds at positions 515-533; serves as a universal bacterial primer.
- 533F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3'): Binds at positions 515-533; a universal primer for bacterial 16S rRNA amplification.
- 787R (5'-GGACTACCAGGGTATCTAAT-3'): Binds at positions 787-806; specific to most bacterial species.
- 930F (5'-TCAAAGKAATTGACGGGGGC-3'): Binds at positions 911-930; targets a broad range of bacteria.
- 1391R (5'-TGACGGGCGGTGWGTRCA-3'): Binds at positions 1391-1408; a universal bacterial primer.
- 1492R (5'-GGTACCTTGTACGACTT-3'): Binds at positions 1510-1492; universal for bacterial amplification.

Utilizing the Applied Biosystems Cycle Sequencing Kit, cycle sequencing reactions were carried out. For every primer, a separate reaction was made, and

the final reaction mixture included the following ingredients:

- Primer (5 pmol): 2 µL
- BigDye Terminator (v3.1): 2 µL
- BigDye Buffer (v3.1): 2 µL
- dH₂O: 2 µL
- Purified PCR template: 2 µL

Primers were employed at a final concentration of 5 pmol for each sequencing process, and the purified PCR products were used as templates. The reactions were conducted in accordance with the cycle sequencing instructions provided by the manufacturer. Sanger sequencing cycle protocol begins with denaturation at 96 °C for 3 minutes, followed by 25 cycles of 96 °C for 30 seconds, 50 °C for 15 seconds, and 60 °C for 4 minutes. Finally, the samples are held at 4 °C.

Cycle Sequencing Purification

In order to eliminate unincorporated dye terminators, salts, and other impurities, the products were purified using the BigDye XTerminator™ Purification Kit after cycle sequencing.

Sequencing and Data Analysis

The ABI 3500 Genetic Analyzer was used to evaluate the purified cycle sequencing products. Contigs were built after the generated sequencing data was processed using Genestudio software. In order to provide results based on 16S rRNA gene sequence analysis, the final sequence data were submitted to GenBank for taxonomic identification and comparison.

Third-generation 16S rRNA Sequencing Method-Barcoding of PCR Products

Using the unique barcodes in the kit, the 16S rRNA amplicons are barcoded as the initial step in the procedure. This is accomplished by combining the amplicon DNA in PCR tubes with the LongAmp Hot Start Taq 2X Master Mix and the relevant 16S barcodes. Following the PCR reaction mix's preparation, the samples go through a thermal cycling procedure to

bind the barcodes to the amplicon ends. To produce the target PCR products that are prepared for the following steps of the process, this barcoding step is essential.

Barcoded Sample Pooling and Bead Clean-up

Once the 16S PCR amplification is completed, the barcoded samples are pooled. The barcoded PCR products are measured, and equal volumes of each sample are mixed together to form a pooled library. To remove extra primers, nucleotides, and other impurities, the pooled samples are cleaned with AMPure XP beads. This purification phase ensures that the library is free of unwanted contaminants, resulting in clean and concentrated DNA for the next sequencing steps. Following cleanup, the pooled sample is measured to determine the DNA concentration and whether it is of sufficient quality for further processing.

Adapter Ligation

Following the successful pooling and cleaning of the barcoded samples, the next step is to ligate sequencing adapters into the DNA library. This is accomplished by adding the Rapid Adapter (RA) and Adapter Buffer (ADB) to the pooled and purified barcoded samples. The reaction mixture is then incubated at room temperature to allow the adapters to properly ligate to the DNA ends. This adapter ligation is critical for preparing the DNA library for sequencing on the flow cell because the adapters aid in the binding of the DNA to the nanopores during sequencing.

Priming and Loading the Flow Cell

Prior to sequencing, the library must be ready to be loaded onto the Oxford Nanopore Technologies (ONT) GridION instrument's R10.4.1 flow cell. To ensure that the adapters are distributed properly, the produced library is carefully mixed and incubated after adapter ligation. The library is prepared to be moved to the flow cell after the incubation is finished. To ensure effective binding of the DNA molecules during sequencing, the flow cell is primed. After the

library has been put onto the flow cell, it is prepared for real-time sequencing, which allows 16S rRNA data to be captured for further examination.

RESULTS

FASTA files for the sequencing data derived from both Sanger and Oxford Nanopore Technologies (ONT) outputs for the following bacterial strains were successfully obtained during the course of this study: *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* ATCC 25955, and *S. aureus* ATCC 25923. This file served as a basis for additional research on the precision, coverage, and caliber of the sequences by thoroughly examining and contrasting the sequencing outcomes for the two platforms (Supplementary File).

When ONT and Sanger sequencing read lengths were compared, ONT sequences showed a definite advantage in generating longer, continuous sequence data that extended till segments denoted by "NNNNNNNNNN." ONT demonstrated a clear advantage by generating near full-length 16S rRNA sequences (~1,500 bp) with only one primer pair. In contrast, Sanger sequencing typically produces shorter reads of approximately 200-300 bp, often covering only partial regions of the 16S gene. This partial coverage in Sanger sequencing may limit taxonomic resolution at the species level, whereas ONT's extended read length provides comprehensive coverage of all hypervariable regions, improving the accuracy and depth of bacterial identification. Moreover, ONT sequencing reduces the need for overlapping read assembly and mitigates the risk of primer-induced biases or sequence dropouts commonly seen in Sanger sequencing. ONT's longer, uninterrupted reads not only allow for more reliable species-level classification but also enhance the efficiency and completeness of microbial profiling from pure cultures.

In comparison to the larger reads from third-generation sequencing, the shorter read lengths produced by the Sanger sequencing method displayed truncation and only partially covered the genome. Eight assembled amplicons were used to generate Sanger reads in our data, which produced a little

quantity of genomic information. These shorter reads provided only a limited picture of the genomic landscape, even though they frequently overlapped with the third-generation sequences. This restriction emphasizes the drawbacks of Sanger sequencing in terms of offering thorough genome coverage, highlighting the benefit of ONT's longer read lengths for applications that need ongoing genomic data.

DISCUSSION

The length differences between the 16S rRNA gene sequences using third-generation sequencing and Sanger sequencing in this work highlight the benefits of third-generation sequencing for acquiring thorough sequence information from the 16S region. The third-generation sequencing method produced lengthy, continuous reads that encompassed a significant amount of the 16S rRNA gene, which has a total length of roughly 1551 base pairs (bp) (21). Interestingly, third-generation sequencing achieved high sequence coverage with a single primer pair, capturing almost the whole 16S gene in a single run (22). Sanger sequencing, on the other hand, yielded shorter sequence reads, requiring eight primers to cover the same region. Due to gaps at primer binding sites, this primer-intensive method not only makes the sequencing technique more complicated but also breaks the continuity of the 16S sequence, which may have an impact on the gene region's completeness. Therefore, the sequence output from Sanger sequencing does not have the continuity that third-generation systems offer, which could affect subsequent analysis like precise taxonomy classification and phylogenetic research. While pointing out the shortcomings of conventional Sanger sequencing for comparable tasks, our results show the value of third-generation sequencing for full-length 16S rRNA gene research, especially for applications needing high-resolution bacterial identification and phylogenetic insight.

Moreover, third-generation sequencing provides an enhanced ability to resolve complex microbial communities by capturing longer sequences with

improved fidelity across primer-binding regions, thereby minimizing amplification biases and sequence dropouts. This advantage is particularly relevant in metagenomic studies, where mixed microbial populations require accurate taxonomic resolution. The reduced primer requirements in third-generation sequencing also minimize the risk of sequence dropouts at primer binding sites, a common limitation in Sanger sequencing. Additionally, third-generation sequencing enables the detection of structural variations by sequencing longer fragments that are typically beyond the reach of Sanger sequencing, making it a more powerful tool for bacterial strain differentiation and genomic epidemiology.

It is clear that third-generation systems offer many benefits over Sanger sequencing, especially in terms of throughput, speed, and scalability (23). The two approaches' throughput capacities are one of their primary distinctions. Despite being a very accurate technique, Sanger sequencing can only handle large or complex materials effectively since it only processes one DNA fragment at a time. However, third-generation sequencing is more suited for extensive genomic research and metagenomic analysis since it can sequence millions of DNA molecules at once, enabling high-throughput sequencing.

Furthermore, third-generation sequencing only needs two primers to cover a target region, simplifying the procedure and lowering potential sources of mistake, whereas Sanger sequencing often requires up to eight primer pairs, making the process more labor-intensive and prone to difficulties. This enhanced simplicity in primer usage with ONT results in fewer potential biases during sequencing, and the approach also eliminates difficulties like base loss, which can occur at primer binding sites with Sanger. Furthermore, in our study, third-generation sequencing produced analyzable data within approximately 10-15 minutes of run initiation, whereas Sanger sequencing required an average of 8 hours per run, including post-run processing. This speed makes third-generation sequencing a good candidate for rapid sequencing applications requiring immediate findings, like as diagnostic testing or field-based sequencing (24).

Another critical advantage of third-generation sequencing is its ability to analyze low-abundance or difficult-to-culture bacteria, which is a major challenge in clinical microbiology and environmental microbiome studies. Sanger sequencing, while highly accurate, struggles with low-concentration DNA samples, often necessitating extensive culturing steps prior to sequencing. Third-generation sequencing, however, can process complex microbial samples directly, providing more comprehensive and unbiased insights into bacterial communities. This aspect is particularly valuable in clinical settings, where rapid and precise pathogen identification can significantly impact patient outcomes and antimicrobial treatment strategies.

Another key advantage of third-generation sequencing is its library preparation time. While Sanger sequencing can take up to three days to construct a sequencing library, third-generation sequencing decreases this time to three hours, making it a considerably more efficient option for high-throughput sequencing applications. This reduction in preparation time is critical for large-scale investigations, where speed and efficiency are essential. Despite these improvements, Sanger sequencing remains the gold standard for focused investigations because of its high accuracy, particularly when working with smaller, more specialized gene areas.

However, the Sanger method's limitation in missing nucleotides, particularly in regions close to primer binding sites, makes it less suitable for comprehensive sequencing of bigger or more complex materials. Sanger sequencing's accuracy is undeniable in controlled conditions, but third-generation system's capacity for real-time sequencing, fewer primer requirements, and faster, more scalable library preparation make it the superior choice for modern genomic research, especially when large datasets are required quickly.

Despite the clear advantages of third-generation sequencing, it is important to acknowledge its limitations, including higher error rates in homopolymer regions and increased costs associated with initial instrument acquisition. While error correction

algorithms and computational tools have significantly improved sequencing accuracy, future advancements in nanopore and single-molecule real-time sequencing technologies will likely address these concerns. The integration of hybrid sequencing approaches, combining third-generation and Sanger sequencing, may provide an optimal balance between read length, accuracy, and cost-effectiveness, particularly for applications requiring ultra-high precision.

In conclusion; Third-generation sequencing surpasses Sanger sequencing in microbial research due to its ability to generate longer, more continuous reads, offering more comprehensive genome coverage with fewer gaps. This is particularly beneficial for sequencing complex microbial genomes that contain repetitive regions and structural variants, which are challenging for short-read methods like Sanger. By improving the quality and efficiency of microbial genome assemblies, third-generation methods reduce the need for extensive sequencing procedures, making them a more cost-effective and dependable option for microbiological studies.

Additionally, third-generation sequencing enhances bacterial identification and classification by capturing full-length 16S rRNA gene sequences with minimal primer interference, providing improved phylogenetic resolution. This capability is especially valuable in areas such as environmental microbiology, clinical diagnostics, and epidemiology, where accurate microbial profiling is crucial for understanding bacterial diversity, monitoring disease outbreaks, and guiding antimicrobial strategies. Although Sanger sequencing remains widely used for targeted gene sequencing, its limitations in read length and throughput reduce its practicality for large-scale metagenomic research. In contrast, third-generation platforms offer high-throughput capacity, faster sequencing, and real-time data generation. As sequencing technology continues to advance—through improved error correction, reduced costs, and enhanced chemistry—third-generation sequencing is poised to become the leading methodology for bacterial genome analysis and taxonomic classification.

ETHICS COMMITTEE APPROVAL

* This study does not require Ethics Committee Approval.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Větrovský T, Baldrian P. The variability of the 16S rRNA gene in bacterial genomes and its consequences for bacterial community analyses. *PLoS One*, 2013; 8(2): e57923.
2. Chakravorty S, Helb D, Burday M, Connell N, Alland D. A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. *J Mic Method*, 2007; 69(2): 330-9.
3. Abellan-Schneyder I, Matchado MS, Reitmeier S, Sommer A, Sewald Z, Baumbach J, et al. Primer, Pipelines, Parameters: Issues in 16S rRNA Gene Sequencing. *MSphere*, 2021; 6(1): e01202-20.
4. Guo M, Yuan C, Tao L, Cai Y, Zhang W. Life barcoded by DNA barcodes. *Cons Gen Res*, 2022; 14(4): 351-65.
5. Singhal N, Kumar M, Kanaujia PK, Viridi JS. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Front Mic*, 2015; 6: 791.
6. Franco Duarte R, Černáková L, Kadam S, Kaushik KS, Salehi B, Bevilacqua A, C et al. Advances in Chemical and Biological Methods to Identify Microorganisms-From Past to Present. *Microorganisms*, 2019; 7(5):130.
7. Satam H, Joshi K, Mangrolia U, Waghoo S, Zaidi G, Rawool S, et al. Next-Generation Sequencing Technology: Current Trends and Advancements. *Biology*, 2023; 12(7): 997.
8. Heather JM, Chain B. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics*, 2016; 107(1): 1-8.
9. Slatko BE, Gardner AF, Ausubel FM. Overview of Next-Generation Sequencing Technologies. *Curr Prot Mol Bio*, 2018; 122(1): e59.
10. ENCODE Project Consortium. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature*, 2012; 489(7414): 57-74.
11. Crossley BM, Bai J, Glaser A, Maes R, Porter E, Killian ML, et al. Guidelines for Sanger sequencing and molecular assay monitoring. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians*, 2020; 32(6): 767-75.
12. Gupta N, Verma VK. Next-Generation Sequencing and Its Application: Empowering in Public Health Beyond Reality. *Mic Tech Welf Soc*, 2019; 17:313-41.

13. Logsdon GA, Vollger MR, Eichler EE. Long-read human genome sequencing and its applications. *Nat Rev*, 2020; 21(10): 597-614.
14. Henson J, Tischler G, Ning Z. Next-generation sequencing and large genome assemblies. *Pharmacogenomics*, 2012; 13(8): 901-15.
15. Laszlo AH, Derrington IM, Ross BC, Brinkerhoff H, Adey A, Nova IC, et al. Decoding long nanopore sequencing reads of natural DNA. *Nat Biotech*, 2014; 32(8): 829-33.
16. Zheng P, Zhou C, Ding Y, Liu B, Lu L, Zhu F, et al. Nanopore sequencing technology and its applications. *MedComm*, 2023; 4(4): e316.
17. Akaçin İ, Ersoy Ş, Doluca O, Güngörmüşler M. Comparing the significance of the utilization of next generation and third generation sequencing technologies in microbial metagenomics. *Microbiol Res*, 2022; 264: 127154.
18. Nygaard AB, Tunsjø HS, Meisal R. A preliminary study on the potential of Nanopore MinION and Illumina MiSeq 16S rRNA gene sequencing to characterize building-dust microbiomes. *Sci Rep*, 2020; 10: 3209.
19. López-Aladid R, Fernández-Barat L, Alcaraz-Serrano V, Bueno-Freire L, Vázquez N, Pastor-Ibáñez R, et al. Determining the most accurate 16S rRNA hypervariable region for taxonomic identification from respiratory samples. *Sci Rep*, 2023; 13(1): 3974.
20. Maiwald M. Broad-range PCR for detection and identification of bacteria. In D. H. Persing, et al. (Eds.), *Molecular microbiology: Diagnostic principles and practice* (2nd ed.). ASM Press; 2011;31.
21. Zhang H, Wang X, Chen A, Li S, Tao R, Chen K, et al. Comparison of the full-length sequence and sub-regions of 16S rRNA gene for skin microbiome profiling. *mSystems*, 2024; 9(7): e0039924.
22. Lin X, Waring K, Ghezzi H, Tropini C, Tyson J, Ziels RM. High accuracy meets high throughput for near full-length 16S ribosomal RNA amplicon sequencing on the Nanopore platform. *PNAS nexus*, 2024; 3(10): 411.
23. Oehler JB, Wright H, Stark Z, Mallett AJ, Schmitz U. The application of long-read sequencing in clinical settings. *Human genomics*, 2023; 17(1): 73.
24. Lu H, Giordano F, Ning, Z. Oxford Nanopore MinION sequencing and genome assembly. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 2016; 14(5): 265-79.

The role of endothelium and calcium and large conductance calcium-activated potassium channels in the effect of fospropofol on vascular smooth muscles

Fospropofolün vasküler düz kaslar üzerindeki etkisinde endotel, kalsiyum ve büyük iletkenli kalsiyumla aktive olan potasyum kanallarının rolü

Meriç DEMELİ ERTUŞ^{1,2} (ID), Mehmet Emin İNCE³ (ID), Nadide ÖRS YILDIRIM⁴ (ID), Alperen Kutay YILDIRIM⁵ (ID), Bilge PEHLİVANOĞLU² (ID), Suat DOĞANCI⁶ (ID), Vedat YILDIRIM³ (ID)

ABSTRACT

Objective: Regarding the unfavorable properties of propofol we investigated the effects of fospropofol, a water-soluble prodrug of propofol, on human internal mammary artery (IMA) rings, as an alternative. Since desired vascular tonus is crucial during cardiac surgery the effect of agents used for induction and/or sedation is important. To clarify the endothelium dependent and calcium and potassium channel modulated mechanism of action of these drugs will enable us to control the patients during and after surgery in intensive care period.

Methods: The arterial rings obtained from the remnants of the IMA used in 19 patients underwent coronary artery bypass grafting were mounted in the organ baths and stabilized under resting tension of 0.5-1 g in physiological Krebs solution at 37°C (gassed with 95%O₂ and 5% CO₂, pH=7.4). The basal and KCl (120mM)-stimulated vascular tonus and the effect

ÖZET

Amaç: Propofolün tolere edilmesi zor olan yan etkileri nedeni ile, alternatif molekül olarak bir propofol öncül molekülü olan ve suda çözünebilen fospropofolün insan internal meme arteri (IMA) halkaları üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık. Kalp ve damar cerrahisi sırasında istenen damar tonusunun sağlanması kritik öneme sahip olduğu için anestezi indüksiyonu ve/veya sedasyon için kullanılan ajanların etkisi de dikkate alınmalıdır. Bu ilaçların endotel bağımlı, kalsiyum ve potasyum kanalıyla modüle edilen etki mekanizmalarının aydınlatılması, hastaların ameliyat sırasında ve sonrasında yoğun bakım döneminde kontrol altında tutulmasını sağlayacaktır.

Yöntem: Koroner arter bypass ameliyatı yapılan 19 hastadan elde edilen IMA parçalarının kullanılmayan bölümlerinden arter halkaları elde edildi ve organ banyolarına asıldı. Fizyolojik Krebs solüsyonunda (%95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlandırılan, pH=7,4, 37°C) 0,5-1 g gerim altında dengeye gelmeleri sağlandı. Bazal ve KCl

¹Zonguldak Bülent Ecevit University, Faculty of Medicine, Department of Physiology, Zonguldak, Türkiye

²Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Physiology, Ankara, Türkiye

³University of Health Sciences, Gulhane Training and Research Hospital, Department of Anesthesiology and Reanimation, Ankara, Türkiye

⁴Sincan Training and Research Hospital, Department of Anesthesiology and Reanimation, Ankara, Türkiye

⁵Gazi University, Faculty of Medicine, Department of Cardiovascular Surgery, Ankara, Türkiye

⁶Vein Vascular Clinics, Ankara, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Meriç DEMELİ ERTUŞ

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD., Zonguldak - Türkiye

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

Geliş Tarihi / Received : 30.04.2024

Kabul Tarihi / Accepted : 09.11.2024

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2025.55632

Demeli Ertuş M, İnce ME, Örs Yıldırım N, Yıldırım AK, Pehlivanoglu B, Doğancı S, Yıldırım V. The role of endothelium and calcium and large conductance calcium-activated potassium channels in the effect of fospropofol on vascular smooth muscles. Turk Hij Den Biyol Derg, 2025; 82(2): 323 - 334

of cumulative propofol (n=8) and fospropofol (n=11) (10^{-7} - 10^{-5} M) was recorded. In another group of IMA segments same protocol of fospropofol was applied to endothel-intact and denuded vessels to investigate the role of endothelium. Then to understand the involvement of L-type Ca^{+2} and BKCa K^{+} channels, the vessels were preincubated by nifedipine (n=8) or iberiotoxin (n=7) followed by the KCl stimulation and fospropofol doses. All the arterial responses were recorded real-time by Biopac data acquisition and analysis system. The results were normalized by tissue weight and given as the percentage of KCl-induced contraction.

Results: Fospropofol caused less and later vasodilation compared to propofol ($p<0.05$). The role of endothelial layer in the vasodilatory role of fospropofol was shown by attenuated effect in endothel-denuded rings. Blocking BKCa potassium channels with iberiotoxin increased contraction and blunted the vasodilatory effect of fospropofol.

Conclusion: In conclusion, fospropofol appears to be a better alternative to propofol with potentially reduced risk of vasodilation-induced hypotension and maintaining vascular tone. further studies are required to validate these findings and to better understand its underlying mechanisms.

Key Words: Vascular tonus, smooth muscle, endothelium, fospropofol

(120 mM) ile uyarılan vasküler tonus ve propofol (n=8) ve fospropofol (n=11) (10^{-7} - 10^{-5} M)'ün kümülatif olarak etkileri kaydedildi. Deney protokolünün diğer serisinde, endotel tabakasının rolünü araştırmak için endoteli sağlam ve haraplanmış damarlara yukarıdaki fospropofol protokolü uygulandı. Daha sonra L tipi Ca^{+2} ve BKCa K^{+} kanallarının etkisini göstermek için damarlar nifedipin (n=8) veya iberiotoksin (n=7) ile inkübe edildikten sonra KCl ile uyarıldı e fospropofol dozları uygulandı. Tüm kayıtlar Biopac veri toplama ve analiz sistemi ile gerçek zamanlı yapıldı. Damar cevapları, doku ağırlığına göre düzeltildi ve KCl uyarısı ile elde edilen kasılma cevabının yüzdesi olarak verildi.

Bulgular: Fospropofol, propofole göre daha az ve daha geç vazodilatasyona neden oldu ($p<0.05$). Fospropofolün vazodilatör etkisinde endotel tabakasının rolü endoteli haraplanmış dokulardaki azalmış gevşetici etki ile gösterildi. BKCa potasyum kanallarının iberiotoksin ile bloke edilmesi kasılmayı arttırdı ve fospropofolün vazodilatör etkisini azalttı.

Sonuç: Sonuç olarak, fospropofol, potansiyel olarak vazodilatasyona bağlı hipotansiyon riskini azaltıp vasküler tonusu korunması nedeniyle propofole için iyi bir alternatif gibi görünmektedir. Ancak bu bulguların doğrulanması ve altta yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılması için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Damar tonusu, düz kas, endotel, fospropofol

INTRODUCTION

Propofol is widely used as an intravenous general anesthetic and/or sedative-hypnotic agent. The main reasons for the widespread use of propofol are its rapid onset of action, short half-life and high clearance rate (1, 2). However, it contains serious side effects such as pain at the injection site, thrombophlebitis, hyperlipidemia, allergic reactions, infections and propofol infusion syndrome,

which are thought to be related to the oil-in-water emulsion formulation of propofol (3). Fospropofol ($C_{13}H_{19}O_5PNa_2$; 2, 6-diisopropylphenoxyethyl phosphate disodium) is a recently developed water-soluble prodrug that is hydrolyzed by endothelial cell surface alkaline phosphatases to yield propofol, phosphate, and formaldehyde. It was approved by the FDA in 2008 for use in monitored anesthesia care sedation (1, 4, 5). The efficacy of fospropofol in the sedation has been investigated in patients undergoing

colonoscopy (6, 7), flexible bronchoscopy (8), minor surgical procedures and in ventilated ICU patients (5, 9). These trials have proven that fospropofol may be used safely in outpatient settings and offers the targeted level of sedation for brief diagnostic and therapeutic procedures. Furthermore, because fospropofol does not contain any lipid solvents, it may have additional advantages over propofol, such as a lower risk of infection or contamination, no risk of allergic reaction to the solvents in lipid-formulated propofol, and unfavorable plasma lipid profile when infused for a long time (1, 4). Moreover, propofol has been shown in several studies to promote vasodilation through various pathways (1, 10-12). Propofol induced hypotension is a common adverse effect, particularly noticeable in elderly and/or the individuals with high blood pressure. Although fospropofol is a prodrug and its side effects are widely known, there is no evidence in the literature that it causes hypotension by reducing vascular tone similar to propofol (13). Clinical studies have reported the incidence of hypotension with fospropofol use in humans to be approximately 4-6% (5). As, there is no report regarding the effects and possible mechanisms of action of fospropofol on human vascular smooth muscle (VSM), we aimed to demonstrate the *in vitro* effects of fospropofol on human internal mammary artery (IMA) rings, compare with propofol and investigate its mechanism of action.

MATERIAL and METHOD

The protocol was explained to the patients who are scheduled for coronary artery bypass graft (CABG) surgery. The patients, who agreed to participate and gave informed consent (n=19), were included to the study. The discarded parts of the IMA that were not used for grafting and considered as medical waste were used in the *in vitro* experiments conducted in Hacettepe University Medical Faculty Physiology Laboratory.

Tissue Preparation

The redundant distal end of the IMA was clipped

off and immediately placed in cold- oxygenated Krebs-Henseleit (118.4 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 1.2 mM KH_2PO_4 , 1.2 mM MgSO_4 , 25.0 mM NaHCO_3 , 2.5 mM CaCl_2 , 12.2 mM glucose; pH: 7.35-7.40) solution, maintained at $+4^\circ\text{C}$, until it was delivered to the laboratory. The arterial segments were dissected gently from adhering fat and connective tissue and 3-4 mm long full thickness endothelium-intact and mechanically destructed endothel-denuded vascular rings were prepared (14, 15). The rings were mounted in a 10 mL double layered water bath filled with Krebs-Henseleit solution and gassed with 95% O_2 and 5% CO_2 at 37°C and attached to isometric force displacement transducer (MAY FDT 05, Commat, Ankara, Turkey). Contraction force of the arterial rings was recorded real time by data acquisition/analysis system (BIOPAC MP35, BIOPAC Systems Inc., Golenta, CA, USA). The rings were allowed to equilibrate under final resting tension of 0.5 g for at least one hour with washouts every 15 minutes. The ring in one of the baths was spared as the time control (TC). After equilibration all the rings were challenged with 80 mM KCl both to test their viability and to obtain the reference for maximum contraction (Figure 1).

Effect of Fospropofol or Propofol on KCl-Induced Contraction and Effect of Endothelial Layer

10 minutes after KCl stimulation fospropofol (n/N=11/11/group) or propofol (n/N=8/8) was applied to the bath fluids of endothelium-intact and endothelium-denuded rings cumulatively at 10^{-7} - 10^{-5} M doses (16, 17) in 5 min intervals in different sets of experiments (Figure 1a).

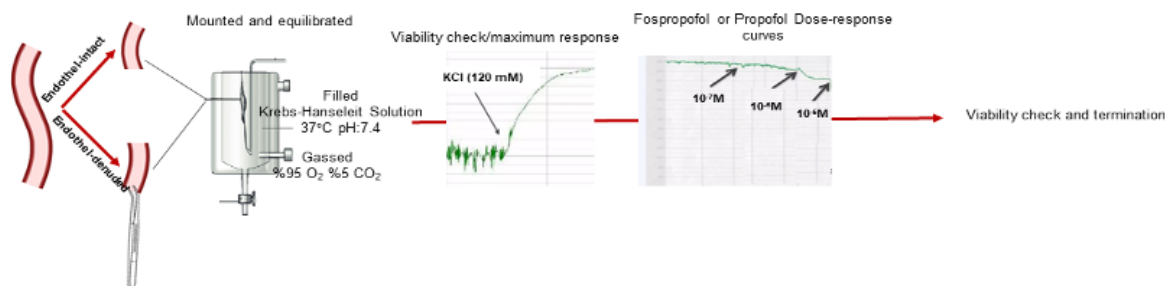
Contribution of L type Ca^{2+} or Large Conductance Calcium-Activated Potassium (BKCa) Channel Inhibitors in the effect of Fospropofol on the Basal and KCl -Induced Contractions in the Endothel-intact and denuded arterial rings

To investigate the possible mechanism of action and the role of calcium and potassium channels in the effect of fospropofol on VSM, equilibrated IMA rings were either pre-incubated with Ca^{2+} channel blocker

nifedipine (10^{-5} M; n=8) (18-20) or K^{+} channel blocker iberiotoxin (10^{-5} M, n=7) (21, 22) for 20 minutes. The rings were stimulated by KCl (80 mM) for 10 minutes, followed by the cumulative fospropofol (10^{-7} - 10^{-5} M) application as described above. The consecutive

fospropofol doses were applied in 5 min intervals. After completion of the protocols, 120 mM KCl was added to all of the baths and tissue viability is assured (Figure 1b).

a) Preparation of IMA rings



b) Preparation of IMA rings

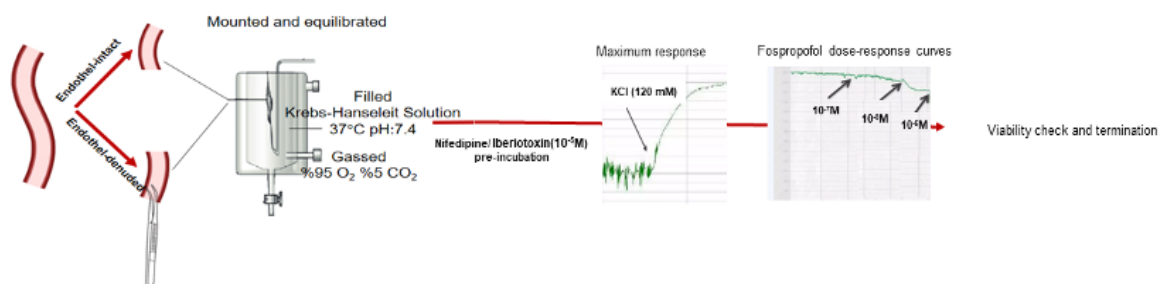


Figure 1. Summary of experimental protocol

a) Effect of propofol or fospropofol on endothel intact or denuded IMA rings

b) Effect of fospropofol on nifedipine or iberiotoxin exposed endothel intact or denuded IMA rings.

Chemicals

Drugs and carriers were freshly prepared and added directly into the bath in order not to exceed the volume more than 10%.

The chemicals used for Krebs Henseleit solution was purchased from Merck Co. Nifedipine (N7634 - Sigma), iberiotoxin (14008- Cayman), fospropofol (CS-O-01559 - Clearysynth) and propofol (A735445 - Toronto Research Chemicals) was generously gifted by Prof. Vedat Yıldırım MD.

Calculations and Statistics

The basal and stimulated contractions as well as the response to propofol or fospropofol was extracted from experimental records as maximum contraction and area under curve (AUC).

Both results of the tonus of the rings were first normalized for tissue weight (gram per 100 milligram of tissue: g/100 mg) and the effects of the drugs on contractions were evaluated as a percentage of maximum response to KCl-induced contraction.

Analysis was performed using Biopac MP36 BSL Pro 3.6.7 software and SPSS 23.0 statistical package for Mac OS. Data was first tested for normal distribution by Shaphiro-Wilk test and as parametric criteria has not been met, Related-Samples Friedman's Two-Way Analysis of Variance by Ranks was employed to compare different measurement points of the same ring. Independent-Samples Kruskal-Wallis Test was used to compare different protocols, followed by Mann-Whitney U test for pair-wise comparison when required. Bonferoni correction for p value was applied.

The results are presented as mean $\pm$ standard errors of mean (SEM). $p < 0.05$ was considered to be

statistically significant. The number of rings and patients were designated as "n" and "N", respectively.

The study was approved by the Health Sciences University, Gülhane Scientific Research Ethics Committee (Date: 08.04.2021 and Number: 2021/158).

RESULTS

The general characteristics of the patients whose arterial segments were analyzed in this study are presented in Table 1. The patients were comparable in terms of age and plasma lipid profiles; however, the only variable that differed significantly was smoking status, as all male patients had a history of smoking.

Table 1. The general properties of the participated patients

Patients	Age	Smoking (%)	Cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)
Women (n=7)	67.6 $\pm$ 8.9	15%	223.6 $\pm$ 50.8	128.3 $\pm$ 32.2	48.1 $\pm$ 5.6	140.5 $\pm$ 43.6
Men (n=12)	64.3 $\pm$ 12.3	100%	203.1 $\pm$ 48.9	117.7 $\pm$ 55.8	36.9 $\pm$ 5.3	105.6 $\pm$ 33.1

HDL: High density lipoprotein, LDL: Low density lipoprotein

The first series of experiments aimed to compare the effects of fospropofol in contraction response of IMA rings with propofol. The cumulative dose (10^{-7} - 10^{-5} M)-contraction-curves of propofol and fospropofol is given in figure 2. The basal tonus and maximum force of contraction when stimulated by KCl was similar for all of the rings. The propofol-treated rings dilated significantly more compared to fospropofol-applied IMA segments in each of the doses tried ($p < 0.05$). On the other hand, both drugs caused attenuated tonus when compared to TC rings where no drug was applied after KCl stimulation, but this effect was only significant at the highest dose of fospropofol (Figure 2).

The timeline evaluation of the vasodilatory effect of fospropofol and propofol revealed significant difference, so that the main decrease in force of

contraction occurred at the period between 3rd to 4th minute ($8.68 \pm 0.76\%$) in fospropofol applied rings in contrast to the major observable effect recorded between first and second minutes of propofol application ($11.26 \pm 3.95\%$). This finding indicated a faster vasodilatory response of propofol in comparison to fospropofol.

The second part of the protocol was designed to investigate the role of endothelial layer in fospropofol-induced relaxation. The cumulative dose-response curves were obtained in endothelium-intact and -denuded rings. The results revealed lack of vasorelaxant effect in endothelium-denuded samples (Figure 3) even at the highest dose applied and significant difference between endothel-intact and denuded rings' response.

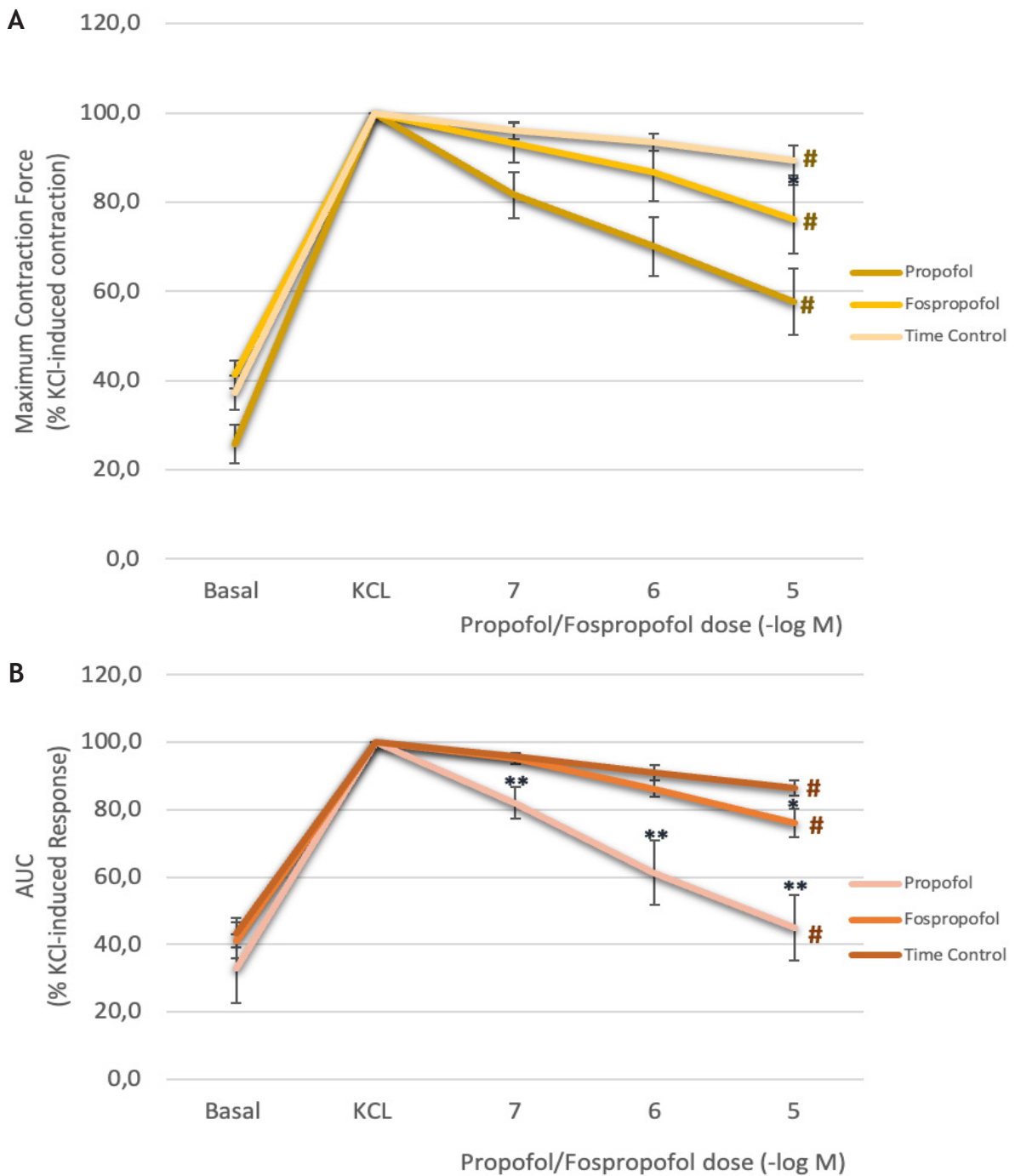


Figure 2. The response of the internal mammary artery rings under basal, KCl-stimulated (80 mM) and fospropofol or propofol (10^{-7} - 10^{-5} M) treated conditions

A) Maximum force of contraction B) Area under curve for 10 min. intervals.

Data (Mean $\pm$ SD) is given as the percent of KCl-stimulated response. * $p < 0.05$ vs time control, ** $p < 0.05$ vs time control and fospropofol, # $p < 0.05$ within group between consecutive doses

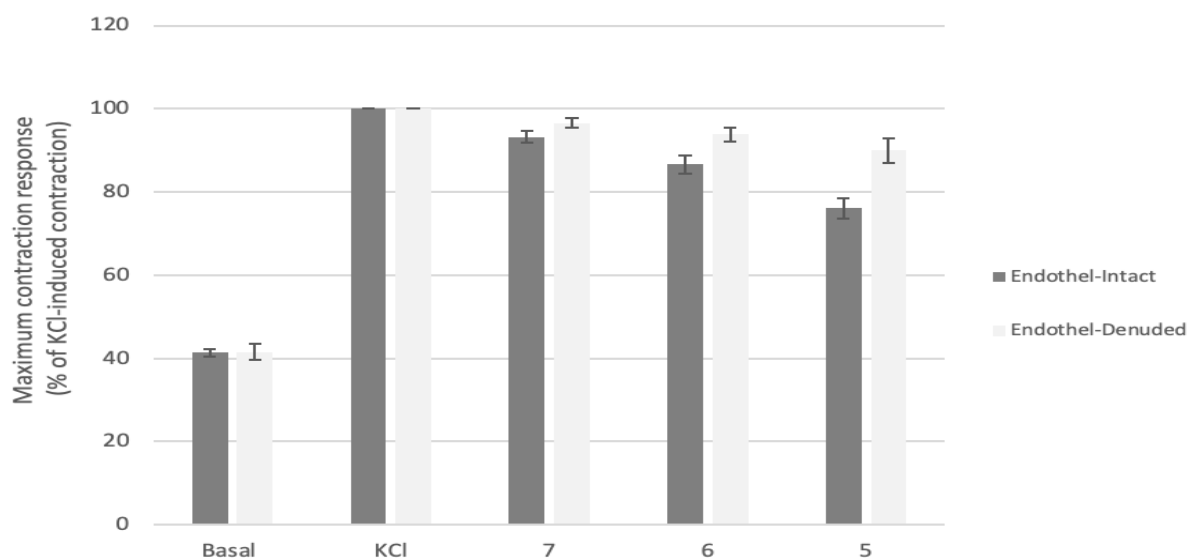


Figure 3. The maximum force of contraction of the endothel-intact and denuded internal mammary artery rings under basal, KCl-stimulated (80 mM) and fospropofol (10^{-7} - 10^{-5} M) treated conditions. Data (Mean $\pm$ SD) is given as the percent of KCl-stimulated response. * $p < 0.05$ vs endothel-intact, ** $p < 0.05$ vs KCl-stimulation.

Further we investigated the role of L type Ca^{+2} and Ca^{+2} activated large conductance BKCa channels in the effect of fospropofol (Figure 4). The application of Ca^{+2} channel blocker decreased vascular tonus both under basal and stimulated conditions and in response to fospropofol treatment ($p < 0.05$ vs control and iberitoxin pre-incubated rings). In contrary iberitoxin application by blocking BK_{Ca} channels, slightly strengthen basal and KCl-stimulated contraction response and attenuated

the vasodilatory effect of fospropofol ($p < 0.05$ vs control). The results were similar for AUC (Figure 4 B). The evaluation of groups for cumulative effect of fospropofol revealed significantly increasing inhibition with each consecutive dose in control and nifedipine applied rings ($p < 0.05$) whereas the force of contraction was comparable between fospropofol doses and to the maximum response in iberitoxin exposed arterial rings (Table 2, Figure 4).

Table 2. The vasorelaxation response to fospropofol presented as percent inhibition of the KCl-stimulated contraction in the control rings

Fospropofol (M)	Inhibition percentage of KCl- stimulated contraction (%)			p^*
	Control	Nifedipine	Iberitoxin	
10^{-7}	4.65	2.82	2.48	NS
10^{-6}	13.58 ^{a,b}	5.97 ^d	3.98 ^d	< 0.05
10^{-5}	23.91 ^{a,b,c}	9.18 ^{a,b,d}	5.27 ^d	< 0.05
p^{**}	< 0.005	< 0.005	NS	

*Between-group comparison, **Within-group comparison

a) $p < 0.05$ vs Maximum contraction in the same group, b) $p < 0.05$ vs 10^{-7} M in the same group c) $p < 0.05$ vs 10^{-6} M in the same group d) $p < 0.05$ vs TC at the same concentration of fospropofol

Ca^{+2} channel blocker; nifedipine and K⁺ channel blocker; iberitoxin preincubated IMA rings. The cumulative fospropofol application significantly increased inhibition in control and nifedipine applied rings.

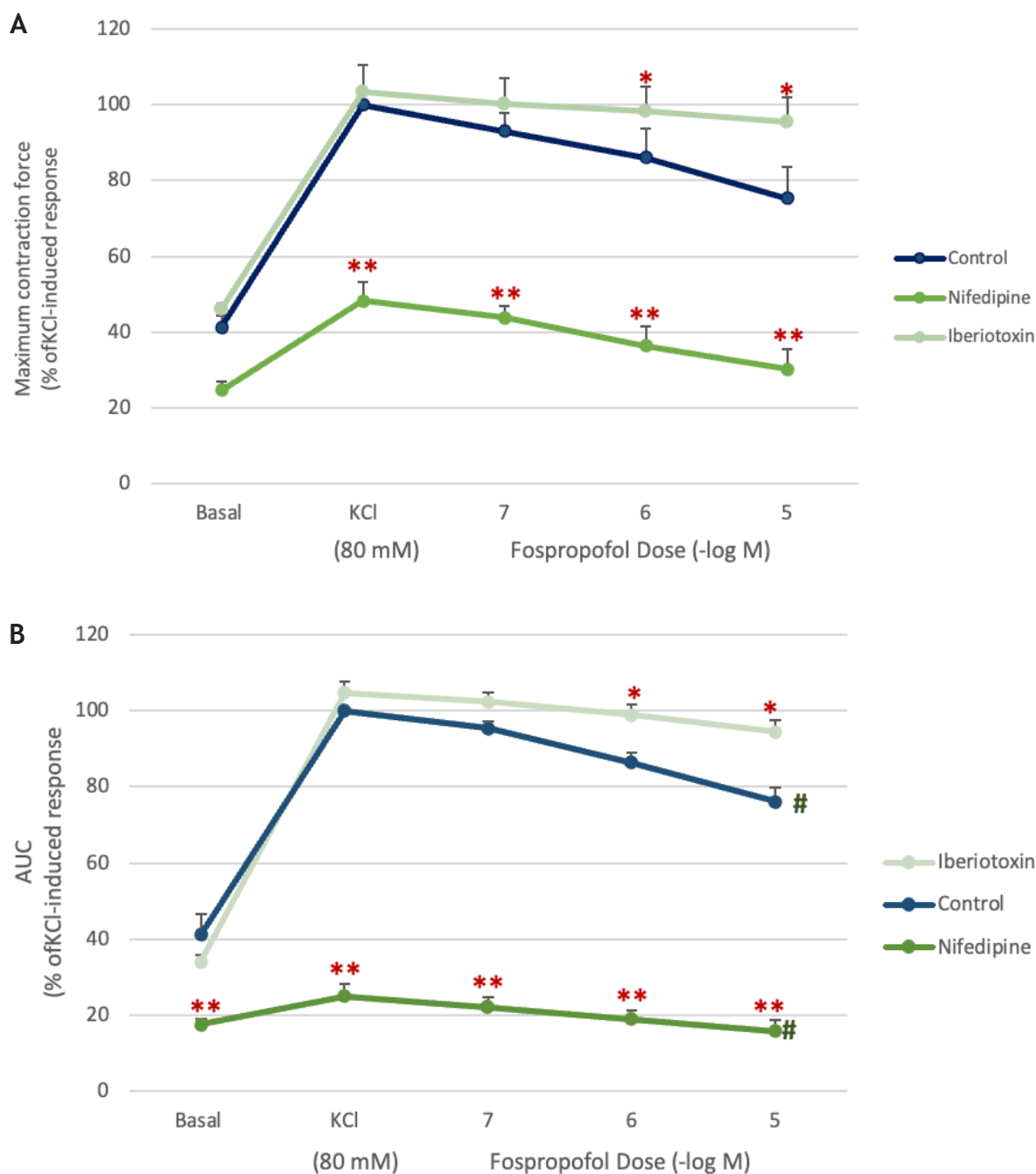


Figure 4. The response of the internal mammary artery rings under basal, KCl-stimulated (80 mM) and fospropofol (10^{-7} - 10^{-5} M) treated conditions in control, iberiotoxin or nifedipine pre-incubated rings

A) Maximum force of contraction

B) Area under curve for 10min. intervals.

Data (Mean $\pm$ SD) is given as the percent of KCl-stimulated response. * $p < 0.05$ vs Time-control, ** $p < 0.05$ vs control and iberiotoxin, # $p < 0.05$ within group between consecutive doses.

DISCUSSION

In this study we investigated the comparative effect of fospropofol and propofol on basal and potassium-induced vascular tonus of IMA, and the role of endothelial layer. Our results indicated significantly lower vasorelaxant effect of fospropofol when compared to propofol, in addition to the involvement of endothelium in mediation of vascular tonus for fospropofol similar to propofol. Despite the various pharmacokinetic advantageous of propofol resulting in widespread use all over the world as an induction anesthetic and sedative-hypnotic (1), due to a wide range of side effects the search for an alternative molecule is on. As we showed significantly less impact of fospropofol on VSM; we examined the contribution of L-type Ca^{+2} and BK_{Ca} channels which are likely to be involved in the mechanism of action of fospropofol. Nifedipine almost nearly abolished the KCl-induced contractions, whereas iberiotoxin slightly enhanced vascular response and blunted fospropofol effect.

Fospropofol is the water-soluble phosphate ester of propofol and documented to act via metabolization to propofol (5). However, recent data attracts attention to mechanisms of action for fospropofol other than its metabolic conversion to propofol. The most likely mechanism is the metabolic side product, formate (23), which is a substrate for chloride-formate exchanger, which will end up with increased chloride efflux in exchange of increased extracellular formate (24) and result in increased depolarization in VSM i.e. increased tonus. On these bases to overcome the main obstacle in the use of propofol; vasorelaxation and associated hypotensive effect, fospropofol can be the best candidate for an alternative. The significantly less vasorelaxant effect for fospropofol in comparison to propofol in the present study, not only adds to the previously reported favorable profile for this molecule but also supports the ones suggesting other mechanisms besides its metabolization to propofol. Our results analyzed for the first time the timeline of the propofol and fospropofol effect,

where the vasorelaxant effect of fospropofol was significantly later than its application in comparison to propofol. This finding adds to the favorable profile of fospropofol, so that management of the patients and the artery to be grafted is easier. This first study of fospropofol on human arterial VSM response suggests a safer profile in regard of hypotension risk.

As we have also shown, the endothelial layer of the vessels is crucial in vascular tone (14, 15) the role of endothelium in the action of propofol is controversial; there are reports indicating no endothelium involvement (1) as well as the ones pointing out its importance (25). In support of the latter one, we documented higher contractile response in endothelium-denuded IMA rings and less vasorelaxant effect.

Moreover, the results of various studies in various species reported endothelium-independent or dependent mechanisms or different ion channels in mechanism of action. That's why, we tested the *in vitro* effect of fospropofol on human arteries in Ca^{+2} channel and K^{+} channel blocked conditions. The need for calcium for any contractile mechanism is very well documented, and regarding the basic knowledge that high intracytoplasmic calcium concentration is achieved by the ion provided from extracellular fluid, the attenuated response to stimulation in nifedipine exposed IMA rings is expected (26, 27). The vascular contraction was already very low in amplitude, however, the vasorelaxant effect of fospropofol followed the same pattern as it was in control rings. This fact should bring another fact to our attention that in patients using calcium channel blockers the response of VSM will be very low.

In contrast to calcium channel blockage the rings exposed to BK_{Ca} inhibitor iberiotoxin exhibited higher contraction response and almost totally abolished relaxant effect of fospropofol. The BK_{Ca} channels when activated results in hyperpolarization of VSM cell membrane due to increased K^{+} efflux and subsequent vasorelaxation. This mechanism was previously shown to be effective in the vasorelaxant response

of propofol (1). As a prodrug it is also involved in the mechanism of action of fospropofol on VSM.

The major limitation of this study is that the experiments were conducted on arterial segments obtained from patients who underwent coronary artery bypass grafting (CABG), who likely had varying degrees of changes. Therefore, the findings should be interpreted with caution and ideally repeated using healthy vascular tissues.

Considering the overall results, fospropofol appears to be a promising candidate due to its

favorable pharmacological profile, controlled onset of action, and ability to maintain vascular tone—potentially minimizing both cardiovascular and other side effects associated with propofol. However, given that fospropofol, like propofol, exhibits endothelium-dependent effects, both agents should be used with caution in patients with suspected or known endothelial dysfunction. Similarly, their use should be carefully monitored in patients receiving calcium channel blockers.

ETHICS COMMITTEE APPROVAL

* The study was approved by the Health Sciences University, Gülhane Scientific Research Ethics Committee (Date: 08.04.2021 and Number: 2021/158).

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Dogan MF, Arslan SO, Yildiz O, Kurtoglu M, Parlar A. Propofol-Induced Vasodilation in Human Internal Mammary Artery: Role of Potassium Channels. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 2019;33(8):2183-91.
2. Folino TB, Muco E, Safadi AO, Parks LJ. Propofol. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC.; 2024.
3. Dinis-Oliveira RJ. Metabolic Profiles of Propofol and Fospropofol: Clinical and Forensic Interpretative Aspects. *Biomed Res Int*, 2018;2018:6852857.
4. Bengalorkar GM, Bhuvana K, Sarala N, Kumar T. Fospropofol: clinical pharmacology. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*, 2011;27(1):79-83.
5. Wu CM, Zhang WS, Liu J, Zhang WY, Ke BW. Efficacy and Safety of Fospropofol Disodium for Injection in General Anesthesia Induction for Adult Patients: A Phase 3 Trial. *Front Pharmacol*, 2021;12:687894.
6. Bergese SD, Dalal P, Vandse R, Satlin A, Lin Z, Candiotti K, et al. A double-blind, randomized, multicenter, dose-ranging study to evaluate the safety and efficacy of fospropofol disodium as an intravenous sedative for colonoscopy in high-risk populations. *Am J Ther*, 2013;20(2):163-71.
7. Goudra B, Gouda G, Mohinder P. Recent Developments in Drugs for GI Endoscopy Sedation. *Dig Dis Sci*, 2020;65(10):2781-8.
8. Monkemuller K, Zimmermann L. Propofol and fospropofol sedation during bronchoscopy. *Chest*, 2010;137(6):1489; 90-1.
9. Gao X, Yang X, Tang Y, Fang X, Yuan Y, Qi H, et al. Fospropofol disodium versus propofol for long-term sedation during invasive mechanical ventilation: A pilot randomized clinical trial. *J Clin Anesth*, 2024;95:111442.
10. Saugel B, Bebert EJ, Briesenick L, Hoppe P, Greiwe G, Yang D, et al. Mechanisms contributing to hypotension after anesthetic induction with sufentanil, propofol, and rocuronium: a prospective observational study. *J Clin Monit Comput*, 2022;36(2):341-7.
11. Sinha S, Sinharoy P, Bratz IN, Damron DS. Propofol causes vasodilation in vivo via TRPA1 ion channels: role of nitric oxide and BKCa channels. *PLoS One*, 2015;10(4):e0122189.
12. Ulusoy KG, Dogan MF, Cam SA, Arslan SO, Yildiz O. Propofol Relaxes Isolated Rat Aorta through BK(Ca) Activation. *Ann Vasc Surg*, 2019;60:397-406.
13. Vellinga R, Valk BI, Absalom AR, Struys M, Barends CRM. What's New in Intravenous Anaesthesia? New Hypnotics, New Models and New Applications. *J Clin Med*, 2022;11(12).
14. Doganci S, Ince ME, Demeli M, Ors Yildirim N, Pehlivanoglu B, Yildirim AK, et al. Sulodexide Develops Contraction in Human Saphenous Vein via Endothelium-Dependent Nitric Oxide Pathway. *J Clin Med*, 2023;12(3).
15. Ors Yildirim N, Yildirim AK, Demeli Ertus M, Dastan AO, Pehlivanoglu B, Chi YW, et al. Sulodexide Inhibits Arterial Contraction via the Endothelium-Dependent Nitric Oxide Pathway. *J Clin Med*, 2024;13(8).
16. Ulusoy KG, Dogan MF, Cam SA, Arslan SO, Yildiz O. Propofol Relaxes Isolated Rat Aorta through BK Activation. *Annals of Vascular Surgery*, 2019;60:397-406.
17. Cohen LB. Clinical trial: a dose-response study of fospropofol disodium for moderate sedation during colonoscopy. *Aliment Pharmacol Ther*, 2008;27(7):597-608.

18. Chen N, Lv J, Bo L, Li N, Wu C, Yin X, et al. Muscarinic-mediated vasoconstriction in human, rat and sheep umbilical cords and related vasoconstriction mechanisms. *BJOG*, 2015;122(12):1630-9.
19. Tsai YM, Jones F, Mullen P, Porter KE, Steele D, Peers C, et al. Vascular Kv7 channels control intracellular Ca(2+) dynamics in smooth muscle. *Cell Calcium*, 2020;92:102283.
20. Balkanci ZD, Pehlivanoglu B, Bayrak S, Karabulut I, Karaismailoglu S, Erdem A. The effect of hypercholesterolemia on carbachol-induced contractions of the detrusor smooth muscle in rats: increased role of L-type Ca2+ channels. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 2012;385(11):1141-8.
21. Baranowska-Kuczek M, Kozłowska H, Kloza M, Sadowska O, Kozłowski M, Kusaczuk M, et al. Vasodilatory effects of cannabidiol in human pulmonary and rat small mesenteric arteries: modification by hypertension and the potential pharmacological opportunities. *J Hypertens*, 2020;38(5):896-911.
22. Guven C, Parlar A. Glabridin Relaxes Vascular Smooth Muscles by Activating BK(Ca) Channels and Inhibiting Phosphodiesterase in Human Saphenous Vein. *Curr Med Sci*, 2021;41(2):381-9.
23. Garcia P, Whalin MK, Sebel PS. Intravenous Anesthetics. *Pharm Phys Anesth*, 2013;137-58.
24. Soleimani M, Howard RL. Presence of chloride-formate exchange in vascular smooth muscle and cardiac cells. *Circ Res*, 1994;74(1):48-55.
25. Wang Y, Zhou H, Wu B, Zhou Q, Cui D, Wang L. Protein Kinase C Isoforms Distinctly Regulate Propofol-induced Endothelium-dependent and Endothelium-independent Vasodilation. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2015;66(3):276-84.
26. Cole WC, Welsh DG. Role of myosin light chain kinase and myosin light chain phosphatase in the resistance arterial myogenic response to intravascular pressure. *Arch Biochem Biophys*, 2011;510(2):160-73.
27. Brozovich FV, Nicholson CJ, Degen CV, Gao YZ, Aggarwal M, Morgan KG. Mechanisms of Vascular Smooth Muscle Contraction and the Basis for Pharmacologic Treatment of Smooth Muscle Disorders. *Pharmacol Rev*, 2016;68(2):476-532.

Geleneksel ve tamamlayıcı tıp (GETAT) uygulamalarında hijyen, enfeksiyonlardan korunma ve hasta güvenliği

Hygiene, infection prevention and patient safety in traditional and complementary medicine (T&CM) practices

Fatma CEVAHİR^{1,2} (ID), Gülsüm KAYA³ (ID) Mustafa ALTINDIŞ⁴ (ID),

ÖZET

Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp (GETAT) uygulamaları, modern tıbbın yanı sıra kültürel ve tarihsel kökeni olan çeşitli hastalıkların tedavisinde ve sağlığın korunmasında tamamlayıcı olarak kullanılan birçok tıbbi uygulamaları içermektedir. Bu uygulamalar, yüzyıllardır birçok toplum tarafından klasik tıbbın dışında düzensiz olarak kullanılmaktadır. Ancak, bu uygulamaların güvenliği, özellikle hijyen ve enfeksiyon kontrolü açısından ciddi sorumluluklar getirmektedir. GETAT uygulamalarına olan eğilim ile birlikte sağlık personellerinin, GETAT yöntemleri hakkında daha donanımlı bilgiye sahip olması gereklilik halini almıştır. Bunun için uygulamanın amacını, olumlu veya olumsuz etkilerini, kullanım yöntemlerini, endikasyonlarını ve kontrendikasyonlarını içeren eğitimler alınması önemlidir. GETAT uygulamalarını yapacak sağlık personellerine verilecek eğitim içeriğinde ayrıca sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlar, bulaşma yolları, korunma önlemleri, hasta güvenliği, sağlık personeli sağlığı ve bağışıklama ilkeleri bulunmalıdır. GETAT uygulamalarının yapıldığı ortamların düzenli olarak ve

ABSTRACT

Traditional and Complementary Medicine (T&CM) practices include many medical practices used as complementary to modern medicine as well as in the treatment of various diseases with cultural and historical roots and in the maintenance of health. These practices have been used irregularly by many societies outside of classical medicine for centuries. However, the safety of these practices brings serious responsibilities, especially in terms of hygiene and infection control. With the trend towards T&CM practices, it has become necessary for healthcare personnel to have better knowledge of T&CM methods. For this purpose, it is important to receive training that includes the purpose of the application, its positive or negative effects, methods of use, indications and contraindications. The training content to be given to healthcare personnel who will perform T&CM applications should also include healthcare-related infections, transmission routes, protection measures, patient safety, healthcare personnel health and immunization principles. It

¹Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Sakarya, Türkiye

²Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Klinik Bakterioloji ve Enfeksiyon Hastalıkları AD., Hastane Enfeksiyonlarını Önleme Doktora Programı, Kayseri, Türkiye

³Yalova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Yalova, Türkiye

⁴Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD. ve Tıbbi Viroloji BD., Sakarya, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Fatma CEVAHİR

Sakarya Uygulamalı Bilimler Üni., Tıbbi Hiz. ve Tek. Bölümü, Akyazı, Sakarya - Türkiye

E-posta / E-mail : fatmacevahir@subu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 20.09.2024

Kabul Tarihi / Accepted : 30.12.2024

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2025.24922

Cevahir F, Kaya G, Altındış M. Geleneksel ve tamamlayıcı tıp (GETAT) uygulamalarında hijyen, enfeksiyonlardan korunma ve hasta güvenliği. Turk Hij Den Biyol Derg, 2025; 82(2): 335 - 360

gerektiğinde temizlenip dezenfekte edilmesi gerekliliği de belirtilmelidir. Bu derlemede, akupunktur, kupa terapisi, sülük tedavisi ve mezoterapi gibi yaygın GETAT uygulamalarında karşılaşılan spesifik hijyen ve enfeksiyon riskleri incelenmektedir. Özellikle, akupunktur gibi cilt bütünlüğünü bozan uygulamalarda steril iğnelerin kullanılması ve her hasta için tek kullanımlık malzemelerin tercih edilmesi hayati önem taşır. Benzer şekilde, biyolojik materyallerin kullanıldığı sülük tedavisinde, sülüklerin tek kullanımlık olması ve tedavi sonrasında uygun şekilde imha edilmesi gerekmektedir. Kupa terapisi ve mezoterapi uygulamalarında ise, ciltle temas eden yüzeylerin steril olması ve kullanılan aletlerin uygun yöntemlerle dezenfekte edilmesi gereklidir. Bu derlemede ayrıca, enfeksiyon kontrolü açısından GETAT uygulayıcılarının düzenli eğitim almalarının uygulama ortamlarının temizlik ve dezenfeksiyon protokollerine uygun şekilde hazırlanmasının önemi vurgulanmaktadır. Hasta güvenliği açısından, GETAT uygulamalarında sıkı hijyen protokollerine uyulması ve enfeksiyon kontrolüne yönelik somut adımların atılması, bu tedavi yöntemlerinin etkinliği ve güvenilirliği için kritik rol oynamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp, GETAT, hijyen, sterilizasyon, dezenfeksiyon, asepsi, antisepsis

should also be noted that the environments where T&CM applications are carried out should be cleaned and disinfected regularly and when necessary. In this review, specific hygiene and infection risks encountered in common T&CM practices such as acupuncture, cupping, leech therapy and mesotherapy are examined. In particular, it is vital to use sterile needles and disposable materials for each patient, especially in practices that disrupt skin integrity, such as acupuncture. Similarly, in leech therapy, where biological materials are used, leeches should be disposable and disposed of properly after treatment. In cupping therapy and mesotherapy, it is essential that the skin contact surfaces are sterile and the instruments used are properly disinfected. This review also emphasises the importance of regular training of T&CM practitioners for infection control and the importance of cleaning and disinfection of the application environments. In terms of patient safety, adherence to strict hygiene protocols and taking concrete steps towards infection control in T&CM applications play a critical role for the effectiveness and safety of these treatment modalities.

Key Words: Traditional and Complementary Medicine, T&CM, hygiene, sterilisation, disinfection, asepsis, antisepsis

GİRİŞ

Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp (GETAT), modern tıbbın dışında kalan, tarihsel ve kültürel kökleri olan ve tamamlayıcı olarak kullanılan çeşitli tıbbi uygulamaları içermektedir. Bu uygulamalar, yüzyıllardır birçok toplum tarafından sağlık sorunlarının tedavisinde ve önlenmesinde klasik tıbbın dışında düzensiz olarak kullanılmaktadır. Bu konu hakkında ilk uzmanlaşma; eskilerden bu yana bilinen en uzun GETAT metodu olan “homeopati”

ile ilgili çalışmalar tıp doktoru Samuel Hahnemann (1755-1843) tarafından yapıldığı görülmektedir. GETAT uygulamaları, bireylerin sağlığını korumak, iyileştirmek ve yaşam kalitesini artırmak amacı taşır (1). GETAT uygulamaları yapılırken hijyen ve hasta güvenliği kritik öneme sahiptir. Sterilizasyon ve temizlik protokollerine uyulması, enfeksiyon riskini minimize eder. Uygulayıcıların eğitilmiş ve sertifikalı olması, hasta güvenliği açısından önemlidir. Ayrıca, hasta öyküsünün dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi ve modern tıbbi tedavilerle etkileşimlerin dikkate

alınması gerekmektedir. Bu önlemler, GETAT uygulamalarının güvenli ve etkili bir şekilde uygulanmasını sağlar (2).

GETAT Uygulamalarının Tanımı ve Önemi

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), geleneksel tıp kavramını; “uzun geçmişi olan; sağlığın korunması ile fiziksel ve ruhsal hastalıkların önlenmesi, tanısı, tedavisi ve iyileştirilmesinde kullanılan; farklı kültürlerle özgü teorilere, inançlara ve deneyimlere dayanan; açıklanabilir ya da açıklanamayan bilgi, beceri ve uygulamaların bütünü” olarak tanımlamaktadır. Tamamlayıcı veya alternatif tıp ise, “ülkenin kendi geleneği ya da konvansiyonel tıp sistemine tam olarak dahil olmayan geniş bir sağlık uygulamaları setini” ifade eder. Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp (GETAT) terimi ise geleneksel tıp ile tamamlayıcı tıp yaklaşımlarının birleşimini ifade etmektedir (3). Günümüzde birçok insan, sağlığını korumak veya geliştirmek, hastalanmamak ve mevcut tedavisine destek olabileceğini düşündüğü GETAT uygulamalarını kullanmaktadırlar. GETAT uygulamalarına olan bu eğilim ile birlikte sağlık personellerinin, GETAT yöntemleri hakkında daha donanımlı bilgiye sahip olması gereklilik halini almıştır. Bunun için uygulamanın amacını, olumlu veya olumsuz etkilerini, kullanım yöntemlerini, endikasyonlarını ve kontrendikasyonlarını içeren eğitimler alınması önemlidir. DSÖ, Geleneksel Tıp Stratejisinin (2014-2023) iki temel amacı olduğunu bildirmektedir. Bunlar; GETAT uygulamalarından potansiyel yarar sağlanması ve uygulamaların ve/veya uygulayanların etkin ve güvenli bir şekilde GETAT hizmetleri dahilinde düzenlenmesidir (4). Bu nedenle ülkemiz Sağlık Bakanlığı tarafından 2012 yılında “GETAT Daire Başkanlığı” kurulmuş olup, 2014 yılında ismi değiştirilerek “Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Daire Başkanlığı” olmuştur. Türkiye’de GETAT uygulamalarıyla ilgili yapılan düzenlemeler sırasıyla, “Akupunktur Tedavi Yönetmeliği” (1991), “Akupunktur Tedavisi Uygulanan Özel Sağlık Kuruluşları ile Bu Tedavinin Uygulanması

Hakkında Yönetmelik” (2002), “Geleneksel Bitkisel Tıbbi Ürünler Yönetmeliği” (2010), “Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliği” (2014) şeklindedir. 27 Ekim 2014 tarihinde Resmî Gazete’de yayımlanan bu yönetmeliğe göre T.C. Sağlık Bakanlığı tarafından yasal olarak sertifika, eğitim programları, uygulama yetkileri ve 15 GETAT yöntemi ile ilgili düzenlemeler yasal çerçeveye kavuşturulmuştur. Bu düzenlemeler; akupunktur, kupa tedavisi, sülük tedavisi, apiterapi, hipnoz, kayropratik, fitoterapi, homeopati, osteopati, larva tedavisi, müzikoterapi, proloterapi, ozon tedavisi, refleksoloji ve mezoterapi uygulamalarını kapsamaktadır. DSÖ, 2019 yılında yayımladığı GETAT Küresel Raporu’nda, Türkiye’de 2014 sonrasında yaşanan bu gelişmelere yer vermiştir. Literatürde yapılan bir çalışma, sağlıkta eğilimin konvansiyonel tıptan daha çok GETAT yöntemleri lehine olduğunu bildirmektedir. Ülkemizde Anadolu’da şifa amacıyla yüzyıllardır kullanılan birçok uygulamaların yasal düzenlemelerle, sertifikalandırma programları ve eğitim merkezleri ile T.C. Sağlık Bakanlığının denetiminde olması, yasal çerçeve kapsamına girmesi konvansiyonel tıbbın tek yöntem olarak görülmeyip GETAT yöntemleri lehine olduğu düşünülebilir (1, 4-7). GETAT uygulamaları her geçen gün gelişmiş gelişmekte olan ülkelerde yaygınlaşmaktadır. Ülkemizde yapılmış çalışmalarda GETAT kullanım oranı %25-%86 arasında değişiklik göstermektedir. Bu oran gelişmiş ülkelerden Almanya’da %80, Kanada’da %70, Fransa’da %49, Avustralya’da %48, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’nde %40 olduğu bildirilmektedir. Etiyopya, Tanzanya, Mali, Myanmar, Ruanda ve Uganda gibi az gelişmiş ülkelerde ise %60-%90 oranlarında uygulanmaktadır. GETAT yöntemlerine olan bu yüksek oranlardaki talep nedeniyle Almanya, İngiltere ve ABD gibi gelişmiş ülkelerin tıp fakültelerinin eğitim müfredatlarında GETAT uygulamalarına yer verilmektedir. Ülkemizde ise mezuniyet öncesi tıp eğitimine bakılacak olursa birçok üniversitenin daha önceki yıllarda ve 2023-2024 müfredatlarında GETAT uygulamaları seçmeli ders olarak bulunmaktadır. Gelecekte hekim olacak

tıp fakültesi öğrencilerinin, GETAT yöntemlerini kullanan hastalarla karşılaşma olasılıkları nedeniyle; bu yöntemlerin temel özellikleri, kontrendikasyonları hakkında farkındalıklarının olması önem arz etmektedir (8). GETAT uygulamaları genellikle sırt, baş, boyun, göğüs ağrıları ve problemleri, eklem ağrısı/sertliği, anksiyete ve depresyon gibi hastalıklarda tedavi amacıyla kullanılmaktadır (9).

GETAT'ta Hijyen ve Enfeksiyon Kontrolü

GETAT uygulamalarının güvenli ve etkili bir şekilde sunulması için hijyen ve enfeksiyon kontrolünün sağlanması kritik önem taşır. GETAT yöntemlerinin uygulanmasının yaygınlaşması nedeniyle uygulayıcıların hastadan hastaya ve hastadan sağlık personeline bulaşın önüne geçilebilmesi için enfeksiyon riskleri ve korunma önlemleri hakkındaki bilgi düzeylerinin artırılması hayati önem taşımaktadır. Hijyen ve enfeksiyon kontrolü, GETAT uygulamalarında hasta ve uygulayıcı güvenliğini korumak için gereklidir. Yetersiz hijyen uygulamaları, Hepatit B virüsü (HBV), Hepatit C virüsü (HCV) ve İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV) gibi kan yoluyla bulaşan hastalıklar (KYBH)'ın ve diğer enfeksiyonların yayılmasına yol açabilir. Literatüre bakıldığında, GETAT uygulamalarında enfeksiyon kontrol önlemleri ile ilgili yapılan bir çalışma sonucuna göre hijyen, tıbbi atık ve kan yolu ile bulaşan enfeksiyonlardan korunmada ilave eğitimin anlamlı olacağı sonucuna varılmıştır. GETAT uygulamalarından kaynaklı olabilecek enfeksiyonlar açısından bakıldığında; özellikle kupa tedavisi, akupunktur, sülük tedavisi gibi vücut sıvıları ve kan teması olan uygulamalarda invaziv girişimde bulunulduğundan HBV, HCV ve HIV gibi etkenlerin bulaşmasında etkili olabileceği düşünülmektedir (2, 7).

Akupunktur

Akupunktur kelimesi Türkçe'ye, İngilizce'deki "acupuncture" kelimesinden alıntılanarak geçmiş olup; sözcüğün kelime anlamı "iğne saplamak"tır (10). Kelime latince "iğne" anlamına gelen acus ve batırma,

delme punctura kelimelerinden oluşmaktadır. Türkçe'de "iğnelemek" anlamında tercüme edilebilir (11). Çince'de akupunktur uygulamalarının karşılığı anlamında olan kelime ise Zhenjiu'dur. "Zhen" iğnelemek, "jiu" anlamı ise moksibüsyondur (10).

Geleneksel Çin tıbbında, meridyen adı verilen ve vücudumuzda kanallarda dolaşan hayat enerjisi (Qi)'nin akışında meydana gelen sorunlar nedeniyle hastalıkların oluştuğu öne sürülmektedir. Akupunktur yöntemiyle, vücudumuzda yer alan bu meridyenler üzerinde belli noktalara iğne batırarak vücuttaki enerji akımının düzenlenmesi hedeflenmektedir. Bu işlemle hedeflenen sonuca ulaşmak için ana unsur derinin nereden uyarılacağına bilinmesi ve uygun bir şekilde iğnelerin yerleştirilmesidir. İnsan geleneksel Çin tıbbında, evrenin bir parçasıdır ve bu evrenin içinde yer alan her şeyin içinde bulunan evrensel gücün insanın içinde de olduğuna inanılmaktadır. Qi adı verilen bu hayat enerjisi insan vücudunda meridyen adı verilen kanallarda dolaşmaktadır. Akupunktur ile meridyenlerde oluşan enerji akım engelinin ortadan kaldırılmasıyla dengenin sağlanması ve hastalıkların önlenmedi hedeflenmektedir (11).

Akupunkturun Tarihi ve Kullanım Alanları

Akupunktur, vücutta belli noktaları iğneyle uyarılarak yapılan ve 5000 yıldır uygulanan tamamlayıcı bir tedavi yöntemidir (12, 13). Arkeolojik kanıtlarda Milattan Önce (M.Ö.) 1000'li yıllarda Shang hanedanı zamanlarında akupunktur iğneleri tespit edilmiştir. Yakın zamanlarda yapılan arkeolojik kazılarda elde edilen veriler ile akupunktur iğnelerini ilk kullananların Uygur Türkleri olduğu bulunmuş ve böylelikle akupunktur uygulamasının Türk kökenli bir uygulama olduğu öne sürülmüştür. En eski veri ile M.Ö. 200 yıllarında ve Çince yazılan "The Yellow Emperor's Classic of Internal Medicine" isimli kitaptır (11, 12). Türk hekimlerinden İbn-i Sina, 1100 yıllarında akupunktur ve meridyenlere değinmiş ve nabız muayenesiyle hastalıkların detaylı bir şekilde ele alınmasını ifade etmiştir. Avrupa'da 17.yüzyılda Pekin'e Cizvit misyonerleri'nin gönderilmesiyle

akupunktur kullanılmaya başlanmıştır. Aynı zamanda Çince olan akupunktur kitapları Avrupa dillerine çevrilerek akupunktur uygulanmaya başlanmıştır. Çin’de 1822’de akupunktur uygulanması sarayda yasaklanmış olmasına rağmen halk arasında uygulanmaya devam etmiştir. Mao’nun 1944’de tedavi edilemeyen baş ağrılarının akupunktur uygulamasıyla son bulması ile akupunktur tekrar gündeme gelmiştir. ABD’de akupunktur uygulamaları ise ABD başkanı Nixon’un 1972 yılında ziyareti sırasında gezide yer alan gazete muhabiri James Raston’un apendektomi ameliyatı olmasıyla başlamıştır. Ameliyattan sonra muhabirin ağrıların akupunktur uygulamasıyla giderilmesi günlerce ABD medyasında gündemde olmuş ve böylelikle akupunktur ABD’ye girmiştir (11). Batılı ülkelerde akupunktur uygulaması günümüzdeki seviyesine, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)’nün, akupunktur uygulamasını 1979 yılında bilimsel bir yöntem kabul edip, etki ettiği medikal durumların listesini ilan ettikten sonra ulaşmıştır (12). Türkiye’de ise Osmanlı Devleti döneminde akupunkturun uygulanmakta ve kuru iğne tedavisi olarak tanınmaktadır. Şerafettin Sabuncuoğlu’nun 1465’de yazdığı tıp kitabında akupunktur noktalarına değinilmiştir. Türkiye Cumhuriyeti döneminde ise 1990 yılında akupunktur ile ilgili resmi kurs düzenlenmiş ve 29.5.1991 tarihinde Resmî Gazete’de akupunkturla ilgili yönetmelik yayınlanmış ve 2002’de bu yönetmelik güncellenmiştir (14). Yönetmelikte akupunktur uygulaması, iğne (kuru iğne), elektrik stimülasyonu (elektroakupunktur), lazer ışınları, elektromagnetik titreşim, termik stimülasyonu (moks) ve frekans gibi bilimsel uyarı yöntemleriyle vücuttaki bulunmuş özel noktaların uyarılması suretiyle yapılan tedaviyi ifade eder.” şeklinde tanımlanmıştır (15).

Akupunktur uygulamasıyla vücudun kendi kendisini onarmasının uyarılması, otoregülasyonun sağlanması, serbest Qi akışının ve Yin-Yang dengesinin oluşturulması amaçlanmıştır (16). Bu uygulama, vücudun kendi kendini tedavi ettiği bir yöntemdir ve en dikkat çekici özelliği ise yan etkisinin olmayışdır. Akupunktur tedavisi üç başlık altında toplanabilir:

i-Çeşitli hastalıkların tedavisi, ii-Analjezi-anestezi ve iii-Alışkanlıkların tedavisi. Bu tedavi bazı hastalıklarda primer tedavi bazılarında ise destekleyici tedavi olarak uygulanmaktadır. Birçok hastalık akupunktur ile tedavi edilebilmektedir. DSÖ, akupunkturun uygulanabileceği 40 hastalık raporlamıştır. Akupunktur özellikle aşağıdaki rahatsızlıklar ve hastalıklar için sıklıkla kullanılır:

- Sırt ağrısı
- Baş ağrısı ve migren
- Psikiyatrik rahatsızlıklar
- Sindirim sistemi hastalıkları
- Romatizmal şikayetler
- Alerjiler
- Kronik solunum yolu hastalıkları (bronşit, astım)
- Sigarayı bırakma
- Zayıflama
- Kadın hastalıkları ve doğum
- Topuk Dikeni (11)

Uygulama Süreci ve Kullanılan Ekipman

Akupunktur uygulaması, bir akupunktur uzmanının bir veya daha fazla iğne kullanarak belirli akupunktur noktalarına uygulama yapmasıyla gerçekleşmektedir. Akupunktur tedavi seansları genellikle hastanın rahatsızlık durumuna ve akupunktur tekniğine göre 30-60 dakika arasında değişebilmektedir. Bir akupunktur uygulaması aşağıdaki aşamalardan oluşur:

- **Başlangıç Değerlendirmesi:** İlk olarak akupunktur uzmanı veya hekim hastanın özgeçmiş, tıbbi öyküsü ve hastalık semptomlarını değerlendirmek amacıyla ön görüşme yapar. Bu değerlendirme, hastanın semptomlarını irdelemek ve en uygun tedavi planını oluşturmada önemlidir.

- **Fiziksel Muayene:** Akupunktur uzmanı veya hekim hastanın fiziksel durumu ve enerji dengesi açısından detaylı bilgi edinmek için fiziki muayene

yapabilir. Fiziki muayenede hastanın nabız kontrolü, akupunktur noktaları kontrolü gibi değerlendirmeler yapılır.

- **Duygusal ve Zihinsel Hazırlık:** Akupunktur uygulamasından önce, akupunktur uzmanı veya hekim akupunktur uygulaması hakkında hastayı bilgilendirir. Bununla birlikte, hastanın rahatlaması sağlanarak endişeleri azaltılır, duygusal ve zihinsel olarak hasta hazırlanır.

- **Steril İğne Uygulaması:** Akupunktur uygulaması sırasında, uzman veya hekim steril iğneleri belirli akupunktur noktalarına yerleştirir. İğneler genellikle yüzeyden birkaç milimetre kadar derinlere batırılır ve bu noktalara iğne yerleştirmesi, hastanın şikâyetlerine ve tedavi nedenine göre değişebilir. İğnelerin batırıldığı noktalarda bir miktar acı ya da karıncalanma hissi olabilir.

- **İğne Uygulama Süresi:** İğneler genellikle yaklaşık 20-30 dakika yerleştirdikleri yerde bırakılır. Bu sürede, hasta rahatlatılarak ve tedaviden en iyi şekilde faydalanması amaçlanır.

- **Dinlenme ve Rahatlama:** İğneler yerlerindeyken hastanın rahat bir pozisyonda dinlenmesi sağlanır. Çoğu hasta akupunktur uygulaması sırasında derin bir rahatlama hissi yaşamakta ve bazı hastalarda hafif tarzda uyku durumu oluşmaktadır.

- **İğne Çıkarma ve Son Değerlendirme:** Uygulama sonuna gelindiğinde, akupunktur uzmanı veya hekim iğneleri dikkatlice yerinden çıkarır ve hızlıca hastanın genel durumunu yeniden değerlendirir. Gelecek akupunktur uygulamasının ne zaman olması gerektiği hakkında önerilerde bulunur. Akupunktur tedavisi planı hastaya göre değişmekle beraber birkaç hafta veya daha da uzun sürmektedir.

Akupunktur vücutta farklı bölgelere uygulanmaktadır. Genellikle vücut gövdesi, kol ve bacaklara uygulanmaktadır. Ayrıca mikrosistem olarak da; kulak, el, ayak ve baş gibi bölgelere uygulanmaktadır. Akupunktur uygulamaları; iğne akupunkturu, moksibasyon, elektroakupunktur, lazer akupunktur, acupressure, aquaakupunktur, hemoakupunktur, pnoumoakupunktur, implantasyon

akupunktur, kulak akupunkturu ve sonopunktur'dur. Akupunktur tekniklerinden en fazla kullanılanları iğne akupunkturu, elektroakupunktur, lazer akupunkturu, acupressure ve kulak akupunkturudur (11). Akupunktur iğneleri, ince ve sterilize edilmiş olmalıdır. Genellikle paslanmaz çelikten yapılmış olan iğneler, farklı uzunluklarda ve kalınlıklarda bulunabilmektedir. İğne seçimi, uygulanacak tedaviye ve iğnenin yerleştirileceği noktaya bağlı olarak değişmekle birlikte akupunktur iğneleri tek kullanımlık olmalı ve her hastaya özel yeni bir iğne kullanılmalıdır.

Akupunkturda Hijyen Protokolleri

Akupunktur tedavisi, cilt üzerine yerleştirilen iğneler aracılığıyla uygulanır. Bu uygulama sırasında cildin bütünlüğü bozulduğundan enfeksiyon riski ortaya çıkabilir. Bu nedenle, akupunktur yaptırmadan önce, sağlık disiplinine uygun bir ortam olması ve steril iğneler kullanıldığından emin olunması önemlidir. Hijyen ve sterilizasyon konularında titizlikle hareket edilerek enfeksiyon riskini minimize edilmelidir.

İğneler, sterilize edilerek paketlenir ve kullanım öncesine kadar bu steril durumunu korur. Böylece, hastalar ve uygulayıcılar için maksimum hijyen ve güvenlik sağlanmış olur. Steril akupunktur iğneleri, tek kullanımlık olup her tedavi seansı için yeni bir iğne kullanılmalıdır. Böylelikle çapraz kontaminasyon riski ve enfeksiyon bulaş riski önlenir. Akupunktur uzmanı veya hekim tedavi süresince hijyen kurallarına azami özen göstermeli; yalnızca steril iğneler kullanılmalı ve işlemi hijyenik koşullarda gerçekleştirmelidir.

Olası Enfeksiyonlar ve Korunma Yöntemleri

Akupunktur uygulamalarıyla bulaşan enfeksiyonları önlemek için, enfeksiyon kontrol protokollerine uyulması gereklidir. Akupunkturun uygun prosedürlerini yerine getirmek için kurallar olsa da, bu tür kuralların gelişmiş ülkelerde bile uygulanması istenilen seviyede değildir. Akupunkturla hastalara enfeksiyon bulaşmasını önlemek için, akupunktur uygulayanlar, HBV'ye karşı aşılanmalı

ve iğnelerin keskinliğini hastalara kullanmadan önce kendi derileri üzerinde test etmemelidirler. Hastalardan kanla bulaşan virüs bulaşmasını önlemek için tek kullanımlık akupunktur iğnelerinin kullanımı kesinlikle takip edilmelidir. Hastadan hastaya kan yoluyla bulaşan virüsler sebebiyle iğnenin tekrar kullanımı önerilmemelidir.

Kupa Terapisi (Dry Cupping) & Hacamat (Wet Cupping)

Birçok şekilde uygulanabilen kupa tedavisi (KT) temel olarak yaş kupa tedavisi (hacamat/Wet Cupping) ve kuru kupa tedavisi (Dry Cupping) olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Yaş kupa tedavisi (hacamat), genellikle hastalıkların tedavisi ya da sağlığın korunması amacıyla vücudun belirli bölgelerinin hafifçe çizilmesi ve bu alanların üzerine boynuz, bardak ya da cam şişe yerleştirilerek kan alınması işlemidir (17). Kuru kupa tedavisi ise, herhangi bir kan alma işlemi yapılmaksızın, yalnızca kupaların negatif basınçla cilde uygulanması şeklindedir. Bu yöntemde “kuru hacamat” da denilmektedir. Her iki yöntemde de kupalar vakum etkisi oluşturarak yapıştırılır. Ancak yaş KT’de cilde çizikler atılarak kan dışarı alınmaktadır. Kuru KT daha çok uzak doğu ülkelerinde yaygın iken, yaş KT ise Orta Avrupa ve Orta Doğu ülkelerinde yaygın olarak uygulanmaktadır (18). KT; kuru kupa, hacamat, hareketli kupa, boş kupa, iğne kupa, su kupa, sıcak kupa/moksa kupa ve herbal kupa yöntemleri gibi çeşitli yöntemlerle uygulanabilmektedir.

Gerek batı gerek doğu tıbbında birçok geleneksel tıbbi sistemlerde hastalıkların zararlı ve kirli kan nedeni ile meydana geldiğine ve bu kanın vücuttan çıkarılmasıyla da hastanın iyileşeceğine inanılmaktadır. Hacamatın kılcal damarlardaki tıkanmaları açtığına, kandaki ve dokulardaki toksinleri attığına, bölgesel kan dolaşımını, bölgesel doku beslenmesini ve oksijenlenmesini artırdığına, ödemi azalttığına, karaciğer, dalak ve kemik iliğini uyarak kan yapımını uyardığına, bağışıklık sistemini güçlendirdiğine, ağrı kesici özelliği olduğuna, çeşitli

kas spazmlarını ve eklem ağrılarını iyileştirdiğine, bel-boyun fıtığı ve kireçlenmelere iyi geldiğine, dalak ve karaciğer hastalıkları ile enfeksiyon hastalıklarının tedavisine katkıda bulunduğu ve psikolojik hastalıkların tedavisine yardımcı olduğuna inanılmaktadır (17).

Hacamatın Tarihi ve Kullanım Alanları

KT, antik Mısır ve Çin’de ilk kayıtları olan ve 5000 yılı aşkın süredir yaygın olarak birçok kültürde uygulanan bir tedavi yöntemidir. KT ile ilgili en eski yazılı belge M.Ö 3300 yılında antik Makedonya’da yazılmış “Ubi Plethore Ibi Evacua” isimli eserdir (19). Mısır’da M.Ö 1550’de ebers papirüsünde KT’yi vücuttan yabancı cisimlerin uzaklaştıran bir işlem olarak bildirmiştir (20). Asur ve Babil Devletleri ile Çin’de KT akupunktur ile birlikte uygulanmıştır. Hipokrat ve Galen’in de KT’yi kullandığı bildirilmiştir (21). Afrika ve Asya’da da binlerce yıldır uygulan KT, vücudun eski haline döndürülmesi anlamına gelen “hacamat” olarak orta doğu ve arap toplumunda uygulanmaktadır (22). İbni Sina (M.S. 980-1037)’da KT’nin yararlarından bahsetmiştir (19). Geleneksel Çin tıbbında diğer tedavi yöntemlerine ve akupunktura yardımcı tedavi yöntemi olarak uygulanan KT’nin klinik olarak yararlı etkileri görüldükçe bağımsız tedavi yöntemi olarak gelişimi devam etmiştir. Çin’de KT’ye ait bulunan ilk kaynak M.Ö. 300’de ipek üzerine yazılan Bo Shu’dur (The Chu Silk Manuscript) (23). Literatür taramasına göre KT; ağrı tedavisi, bel ağrısı, fibromiyalji, kolda ağrı ve uyuşma, karpal tunel sendromu, ateroskleroz ve yüksek LDL, eklem ağrısı ve romatoid artrit, vücut savunması sistemini güçlendirme, akut gut artrit, herpes zoster, nörodermatit, akne konglobata, migren ve kanser ağrısı gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (17).

Uygulama Süreci ve Kullanılan Ekipman

KT, vücudun belli bölgelerine uygulanır. Her biri vücudun farklı bölgelerinin rahatsızlığı için kullanılan bölgeler olup bu bölgeler; kafanın arka kısmı, ense, omuzlar, kürek kemikleri arası orta-üst kısmı, kürek

kemikleri altı, bel, kuyruk sokumu, diz bölgesi, dizin üst ve alt kısımları, baldırların arka kısmı, ayak bileğinin dış ve iç kısmıdır.

KT, top ve çan gibi çeşitli şekil ve boyutlardaki (2,5-7,5 cm) kupalarla uygulanmaktadır. Geçmişte vakumlama amacıyla boynuz, çömlek, metal ve bambu gibi çeşitli malzemeler kullanılırken; günümüzde ise hijyen açısından daha güvenli olan tek kullanımlık cam veya PVC kupalar tercih edilmektedir (24). KT uygulamasıyla cilt üzerinde belirlenen bölgelerde, vakumlama yoluyla vazodilatasyon, interstisyel sıvı artışı ve lokal ısı artışı oluşturarak bölgesel kan akımını arttırması amaçlanır. Çin tıbbındaki yaş KT uygulanan alana öncelikle çizikler atılır, peine kupalar negatif basınçla yerleştirilir ve bölgedeki sıvı/kan dışarı alınır. Arap toplumunda ise; öncelikle kupalar yerleştirilir, oluşan negatif basınçla deri kabarır ve hiperemi oluşur. 5 dakika sonra kupalar alınır ve bu bölgelere çizikler atılır ve kupalar tekrar negatif basınç oluşturularak yerleştirilir. Böylelikle sıvı/kanın dışarı atılması sağlanır. Yaş KT uygulama tekniğinde etkinlik çok önemlidir. Cildin üst tabakası epidermis, alt tabakası ise dermisten oluşur ve dermo-epidermal alanda fenestre kapillerler vardır. Epidermise yapılan çiziklerin (0,1-0,2 mm gibi) yüzeysel olması, cilt bütünlüğünü bozarken kapillerlerin travmatize edilmemesi ve özellikle interstisyel alandaki sıvının dışarıya atılması gerekmektedir. Kupa yerleştirildiği yerde 5-10 dakika bekletilir. Kupa uygulanan bölgede eritem, ödem ve ekimoz oluşabilmekle birlikte birkaç günden birkaç haftaya kadar bu durum düzelir (25).

İyileşmeyi kolaylaştırmak ve iz kalma riskini azaltacağı için cilde yapılan çiziklerin cildin doğal kıvrımlarına paralel olması tavsiye edilmektedir. Uygulamadan 1-2 gün önce bireye proteinden fakir diyet önerilmektedir. Ayrıca birey işlemden sonra 24 saat içinde banyo yapmamalıdır. Yaş kupa tedavisinin aç karnına uygulanması önerilir, çünkü yemek sonrası mezenterik arter dolaşımında artış meydana gelir ve bu durum, cilt gibi periferik bölgelere giden kan akımını azaltabilir. Bu nedenle, optimal etki ve güvenlik açısından uygulamanın aç karna yapılması

tavsiye edilmektedir. Ayrıca bazı kaynaklar, yaş kupa tedavisinin 2 yaş altındaki çocuklara ve 60 yaş üzerindeki bireylere uygulanmasını önermemektedir (26, 27).

Hacamatta Hijyen Protokolleri

KT uygulama sırasında çok dikkatli olunmalı, temiz ve titiz çalışılmalıdır. Aksi takdirde hastalarda enfeksiyon gelişebilir. Günümüzde giderek tercih edilen bir yöntem olmakla birlikte, uzman olmayan kişiler tarafından yapıldığında ve hijyen koşulların dikkat edilmediğinde ciddi komplikasyonlar da oluşabilen bir uygulamadır. Hijyen kurallarına ve sterilizasyon uygulamalarına dikkat edilmesi, güvenli bir şekilde hacamat uygulaması için önemlidir. Hepatit veya AIDS gibi kan yoluyla bulaşan bir hastalığı olanlara hacamat yapılırken kontaminasyon riskinin yüksek olduğu unutulmamalıdır. Hacamatta kullanılan bütün araç gereçler bir defa kullanıldıktan sonra atılmalıdır, aynı hasta için dahi olsa tekrar tekrar kullanılmamalıdır.

Olası Enfeksiyonlar ve Korunma Yöntemleri

Yaş ve kuru KT uygulamalarında enfeksiyon riski (HBV, HCV, HPV veya HIV) olabilmekle birlikte gerekli tedbirler alınarak bu riskler önlenabilir. Enfeksiyon riski nedeniyle hijyen protokolüne titizlikle uyulması gerekmektedir. KT, çatlak cilt veya enfeksiyon bölgelerine uygulanmamalıdır. KT uygulama sırasında sterilite koşullarına dikkat edilmeli ve deri zarar görüp görmediği yönünden takip edilmelidir. Kupa terapisi sırasında kötü hijyen uygulamaları ile ilgili omurga apseleri vakaları gözlenmiştir. Özellikle ıslak kupa terapisi daha fazla enfeksiyon ve yan etki riski taşımaktadır. Hijyenik koşullara dikkat edilmesi son derece önemlidir. Aksi halde cilt enfeksiyonları gelişebilir. Kan yoluyla bulaşan hastalıklar (HBV, HCV, HPV veya HIV) iski ortaya çıkabilir. Bu nedenle, uygulama ortamının ve kullanılan ekipmanın hijyenik olması hayati önem taşımaktadır.

Sülük Tedavisi (Hirudoterapi)

Sülük tedavisi (hirudoterapi), tedavide tıbbi

sülüklerin kullanımını içeren uzun yıllardır kullanılmaya devam edilen bir yöntemdir. Uzun yıllar sülükler terapötik olarak kullanılsa da farmakoterapinin gelişip ilerlemesi sonrası tedavide kullanımı azalmıştır. Hirudoterapinin önemi konvansiyonel yöneme ek olarak zamanla tekrar artmıştır. Sülüklerin tıbbi olarak kullanılmasının arkasındaki temel mekanizma, kan emmeleri esnasında açığa çıkan salgıda, farmakolojik ve biyolojik yönden oldukça etkili biyoaktif maddeler olduğu ve kan emme süreci sırasında salgıladıkları bu biyoaktif maddelerin tedavi edici etkileridir (28, 29).

Sülük Tedavisinin Tarihi ve Kullanım Alanları

Dünyada birçok ülkede hirudoterapi, hastalıkların tedavisinde tamamlayıcı ve destekleyici olarak kullanılmaktadır. M.Ö. 1500'lere uzanan sülüklerin tedavide kullanımı Antik Yunan, Avrupa, Hint, Çin, Arap, Pers ve Anadolu medeniyetlerinin yazıtlarında rastlanmıştır ve Osmanlı döneminde de hirudoterapi yönteminin kullanıldığına dair kanıtlar vardır (30). Halkalı omurgasızlar sınıfında oldukları bilinen sülükler antik çağdan beri birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Son yıllarda mikrovasküler olarak yapılan cerrahi tekniklerle birlikte tıbbi sülüklerin kullanımına yönelik gerçekleşmiştir. Dünyada birçok farklı tür sülük test edilerek incelenmişse de sülükler arasında kullanım yelpazesi en geniş terapötik özellikte olan sülük *Hirudo medicinalis*'tir. Sülük tükürüğü birçok biyoaktif bileşikler ihtiva eder. Bunlar arasında eglin, hirudin, bdelin, hyaluronidaz, destabilas, dekorin, calin, hirustatin, apiraz, triptaz inhibitörleri ve kompleman inhibitörleri, histamin benzeri maddeler, karboksipeptidaz A-inhibitörleri ve asetilkolin sayılabilir (29). *H. medicinalis* türü tıbbi sülükler, birçok hekim tarafından küçük ve yüzeysel çizikler oluşturarak uygulama kolaylığı sağlamaları nedeniyle tercih edilmektedir. 100'ün üzerinde çeşitli özelliklere sahip biyoaktif madde tükürük bezlerindeki salgıda mevcuttur. Bu maddelerin; analjezik, vazodilatör, antienflamatuvar ve antibakteriyel özelliklerinin yanı sıra, ödemin çözülmesine, hasar görmüş vasküler dokunun canlılığının artırılmasına

ve ağrının azaltılmasına katkı sağladığı gösterilmiştir (31). Hirudoterapi, cerrahi eksplorasyona alternatif olarak venöz yetersizlik tedavisinde de tercih edilmektedir. Günümüzde plastik-rekonstrüktif cerrahi alanında venöz drenajı sağlaması nedeniyle flep sağ kalımını artırdığının gösterildiği araştırmalar sonucunda tıbbi sülük tedavisinin 2004 yılında ABD İlaç ve Gıda Dairesi tarafından tıbbi sülük çeşidi olan *H. medicinalis*'in plastik rekonstrüktif cerrahide terapötik amaçlı kullanımına izin verilmiştir. Bu kullanım sayesinde gelişen venöz tıkanıklıkların takibinde ortaya çıkabilecek nekroz engellenip, doku sağ kalımı elde edilebilmektedir. Türkiye'de ise, 2014 yılında yayımlanan "Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliği" kapsamında, Tarım Bakanlığı tarafından onaylı tıbbi sülük üretim çiftliklerinden steril olarak temin edilen sülüklerin, yalnızca hekimler tarafından ve GETAT merkezlerinde uygulanmasına izin verilmiştir (29, 31-33). Tıbbi sülük tedavisi; kas iskelet sistemi rahatsızlıkları, kalp ve dolaşım sistemi rahatsızlıkları, solunum sistemi hastalıkları, üreme sistemi hastalıkları, sinir sistemi rahatsızlıkları, ağrı, göz ve kulak rahatsızlıklarının da tedavisinde kullanılabilmektedir. Bunlar içerisinde; hipertansiyon, pasif konjesyon, enflamatuvar reaksiyonlar ve spastik durumlar, variköz venler, hemoroid, periartrit artroz, osteoartrit, ve romatoid artrit, tromboflebit, tromboz ve emboli, hematomlar, dış ve kronik kulak enfeksiyonları, katarakt, glokom dahil göz hastalıkları, travmatik yaralanmalar ve inflamasyon, diş eti iltihabı, paradontit gibi diş problemleri, dişeti ödemi ve stomatorrhagia, vertebrojenik ağrı sendromları, Hepatit, kolesistit, pankreatit, mide ülseri, uyuz, sedef hastalığı gibi kronik cilt hastalıkları, ekzematöz dermatit ve kronik ülserler, migren, solunum bozuklukları, astım, akut rinofarenjit ve spazmodik coryza, solunum hastalıkları, erkek ve kadın infertilitesi, Jinekolojik bozuklukları, endometriozis, parametrit, mastit ve fibromastopati bulunmaktadır (29, 32).

Uygulama Süreci ve Kullanılan Ekipman

Hirudoterapi, doğal ve kısmen az masraflı bir GETAT yöntemidir. Ancak, faydalarının yanı sıra az olsa da ciddi durumlar içeren yan etkileri ve komplikasyonları mevcuttur. Bu nedenle tıbbi sülük tedavisini her bireye uygulamak doğru değildir. Özellikle gebeler ve emzirme dönemindeki anneler, anemili veya hemofili gibi kanama bozukluğu olan bireyler ve çocuklar hirudoterapi için risk grubundadır. Ayrıca immünyetmezliği olanlar veya immunsupresif tedavi alan hastalar, HIV ve Hepatit enfeksiyonu olanlar, lösemi gibi hematolojik maligniteli hastalar tıbbi sülük tedavisinin kontrendikasyonları arasındadırlar (32, 33). Hirudoterapi prosedürü; a) Hastaların hazırlığı b) Sülüklerin hazırlığı c) Tedavi süreci d) Tedavi sonrası işlemler olmak üzere dört başlıkta sıralanabilir.

Hastaların hazırlanması: Hirudoterapi sürecinde hastalar ve sülükler için rahat bir ortam oluşturulmalıdır. Hastaya işlemin tüm aşamaları hakkında açıkça bilgiler verilmeli, sülüklerin zarar verme yeteneğinin olmadığı belirtilip psikolojik olarak hirudoterapi tedavisini benimsemesi sağlanmalıdır. Hirudoterapi tedavisi her hastaya özgü farklı yaklaşımlar içerdiğinden hastaların demografik verileri, alt hastalıkları ve özelliklerinin iyi araştırılması gerekmektedir. Her seans öncesinde ve tüm aşamalarda hastalar ve uygulayıcılar kişisel hijyen, enfeksiyon kontrol önlemleri ve ortam dezenfeksiyonu/sterilizasyonuna dikkat etmelidirler (29).

Sülüklerin hazırlığı: Sülükler tıbbi tedavi amacıyla sağlıklı bir şekilde üretilmiş sertifikalı olmalıdır. Doğada bulunan vahşi sülüklerin kullanımı enfeksiyon oluşumu ve sülüklerin soylarının azalmasına yol açacağından önerilmemektedir. Ayrıca doğadaki sülükler kimyasal atıklarla kontamine olmuş veya radyasyona maruz kalmış olabileceğinden tedavinin iyileştirici etkisini azaltabilmektedir. Uygulama öncesi her ne kadar zor olsa da kullanılacak sülük sayısı belirlenerek (tedavi başına 2-5-7-10 ve hatta 15-20) işlemden hemen önce sülükler kendi kabından alınarak, temiz su dolu cam kavanoza koyulmalıdır.

Sülüklerin yüzme yeteneği ve ciltteki hareket hızı yüksek olmakla birlikte yapışma özelliği hava koşullarına göre değişiklik gösterebilir (29).

Tedavi süreci: Tedavi günün herhangi bir zamanında, tercihen sabahın erken saatlerinde yapılmalıdır. İşlem öncesi küçük bir küvette temiz sıcak su, steril gazlı bez, pamuk, yeni açılmış bir sünger, hijyenik tepsi, steril cımbız, bant ve bandajlar, test tüpleri veya küçük kavanozlar hazır bulundurulmalıdır. Sülük sayısını belirlemede olduğu gibi sülüğün yerleştirileceği yere karar vermek de oldukça güçtür. Belirlenen bölge steril distile su ile yıkanıp kurutulduktan sonra, ucu kesilmiş 5 ml'lik bir enjektörün içine sülük yerleştirilip direkt enjektörün açık ucu ile cilt yüzeyine uygulanır ve sülük hastaya yapıştıktan sonra enjektör çekilir (34). Sülükler beslenirken rahatsız edilmemeli, beslenmeleri için yeterli alana sahip olmalıdırlar. Sülük, normalde 20 ila 60 dakika süren beslenme süreci sonunda hastayı bırakacaktır (29).

Tedavi sonrası işlemler: Sülükler hastayı bıraktıktan sonra %70'lik alkol solüsyonuna koyulmalıdır. Bu solüsyonda ortalama 10 dakika içerisinde etkisiz hale gelen sülükler protokollere uygun bir şekilde bertaraf edilmek üzere uygun bir tıbbi atık kutusuna atılmalıdır (29).

Sülük Tedavisinde Hijyen Protokolleri

Hirudoterapi yönteminin güvenli, etkili ve olası enfeksiyon risklerinin önlenmesi için hijyen protokollerine sıkı bir şekilde uyulması gerekmektedir. Sülüklerin doğası gereği kan emmesi, enfeksiyon ajanlarının taşınmasına ve yayılımına sebep olabilir. Bu nedenle, tedavi sırasında hem hasta hem de uygulayıcılar için uygun hijyen standartlarına uyulması gerekmektedir. Kan yoluyla bulaşan hastalıklar nedeniyle sülükler kişiye özel olmalı, başka bir kişiye tekrar kullanılmamalıdır.

Sülükler, tıbbi kullanım için özel olarak yetiştirilmiş, patojenlerden arındırılmış ve tedavi öncesinde steril su ile yıkanmış olmalıdır. Tedavi sırasında personellerin kişisel koruyucu ekipman (KKE)

kullanması, el hijyeni ve eldiven kullanımı ilkelerine uyması ve diğer enfeksiyon kontrol önlemlerini yerine getirmesi çok önemlidir. Hastaya uygulama sırasında kullanılan tüm ekipmanlar mutlaka tek kullanımlık veya dezenfeksiyon/sterilizasyona uygun olmalıdır (29, 35-38).

Olası Enfeksiyonlar ve Korunma Yöntemleri

Hirudoterapi uygulamalarında birçok yan etki ve komplikasyonlar görülebilmektedir. Bunların arasında uzamış kanama, kaşınma, alerji, kızarıklık ve yanma hissi vardır. Tedavi sonrası gelişebilecek uzamış kanama için birkaç tedavi yöntemi vardır. Öncelikle kanamanın hızlı bir şekilde durdurulması ve enfeksiyona maruz kalmaması için steril gazlı bez ile yara üzerine basınç uygulanmalıdır. Kanama süresinin uzaması halinde zaman kaybetmeden diğer yöntemlere geçilmelidir. Sülük terapisinde oluşan en ciddi komplikasyonlardan birisi de enfeksiyondur. Sülüklerin HBV, HCV, HIV, sifilis, toxoplasmosis gibi bakteriyel, viral ve paraziter enfeksiyonları taşıyabilme ve bunları hasta veya uygulayıcılara bulaştırabilme özellikleri vardır. Ayrıca, tıbbi sülüklerin intestinal florasında en sık rastlanan patojen, gram negatif bir bakteri olan *Aeromonas hydrophila*'dır. Bu bakterinin, tedavi sonrası oluşan enfeksiyonların %88'inin etkeni olduğu tespit edilmiştir. Genellikle deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olmakla birlikte ayrıca gastroenterit, sepsis ve pnömoni enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Meme ameliyatı olmuş bir hastada uygulanan sülük tedavisi sonucu *Aeromonas* kaynaklı meme enfeksiyonu ve sepsis görülmüştür (32, 33, 39, 40). Sülük terapisi sonrası gelişen enfeksiyon komplikasyonlarından korunmak için el hijyeni, KKE kullanımı, dezenfeksiyon/sterilizasyon ve ortam hijyeni kurallarına uyumun yanı sıra tedavi öncesi uygun profilaktik antibiyotik kullanılması önerilmektedir (29).

Mezoterapi

İlaç ve çeşitli bitki özleri, vitaminler, eser elementler gibi kombinasyonların fazla sayıda ve

küçük miktarda enjeksiyonlarla intradermal ya da subkutan uygulanması işlemine mezoterapi denir. Yunanca orta (mesos) ve tedavi (therapia) anlamına gelen kelimelerin birleşiminden oluşan mezoterapi derinin ortasının tedavisi anlamına gelmektedir (41). Başta Avrupa ülkeleri olmakla birlikte mezoterapi deri lezyonları ve yaşlanma karşıtı çalışmalarda, fizik tedavi, ortopedi ve spor hekimliği gibi birçok farklı alanda tıbbi çalışmaların bir parçası olarak uzun süredir uygulanmaktadır.

Mezoterapinin Tarihi ve Kullanım Alanları

Mezoterapi uygulaması, intradermal ya da subkutan dokuya iğneler aracılığıyla ilaç ve çeşitli bitki özleri, vitaminler, eser elementler gibi çeşitli maddelerin enjekte edildiği minimal invaziv bir tedavi seçeneğidir. Mezoterapi dermatolojik tedavilerden ağrıya kadar çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Diğer tedavilere oranla daha düşük dozlarda ilaç uygulanmasına rağmen lokal olarak daha yüksek konsantrasyonlar bu yöntemle elde edilmektedir. Avrupa'da 1950'li yıllardan bu yana uygulanan bu tedavi seçeneği zamanla tüm dünyada yaygınlaşmış ve dermatoloji alanında sıklıkla uygulanan bir işlem olmuştur. Ülkemizde de mezoterapi uygulaması geleneksel tamamlayıcı tıp uygulamaları arasında en fazla uygulanan ve talep gören işlemlerden biridir.

Etki mekanizmasının tam olarak açıklanamaması sebebiyle mezoterapi, tüm dünyada tamamlayıcı bir tedavi yöntemi olarak kabul görmektedir. İğnenin mekanik olarak delici etkisi ve uygulanan ilacın kimyasal etkisine bağlı olarak lokal, bölgesel ve merkezi etkilerden oluşmaktadır. İlk olarak mezoterapi 1952 yılında Dr. Michel Pistor tarafından uygulanmıştır. Dr. Pistor astım hastasına tedavisi sırasında damar içi olarak uyguladığı prokain'in hastada iştme kaybına da etki ettiğini kanıtlaması üzerine intradermal prokain enjeksiyonlarını çeşitli durumlarda tedavi amacıyla uygulamaya başlamış ve 1976'da bu yöntemi de "mezoterapi" olarak isimlendirmiştir (42). Bu tedavi uygulaması daha sonra mezoterapinin özgün uygulaması olarak kabul

edilmiştir (43).

Mezoterapi uygulamasıyla ilaç yavaş yavaş diffüzyon şeklinde düşük dozla vücuda etki ederken; sinerjistik etkilerle diğer farmakolojik ve farmakolojik olmayan tedavilerle de uyumlu bir etki sağlanmaktadır. Bu uygulamayla lokal farmakolojik etkiye yüksek sistemik konsantrasyonlara ihtiyaç duyulmadan ulaşılmaktadır (44). Ayrıca, hastanın kendi kök hücrelerini ve büyüme faktörlerini kullanarak hasarlı dokuları iyileştiren biyolojik tedavi seçeneği olması mezoterapiyi çekici bir tedavi seçeneği haline getirmiştir.

Mezoterapi intradermal uygulama olmakla birlikte tedavide her zaman deri ve deri ekleri hedef değildir. Mezoterapi osteoartrit, fibromyalji, tendinit, bursit, bel ağrısı gibi kas-iskelet sistemi hastalıklarının tedavisinde; selülit, alopesi, ksantelema, hiperpigmentasyon, melazma gibi deri hastalıklarının tedavisinde; aynı zamanda astım ve tinnitus'ta da kullanılmaktadır. Günümüzde plastik cerrahi uygulamaları arasında da giderek daha fazla yer almakta ve lipoliz, yüz gençleştirme ve alopesi tedavisinde de uygulanmaktadır.

Uygulama Süreci ve Kullanılan Ekipman

Mezoterapi, düşük dozlarda, çok ince iğneler ile bitki özleri, homeopatik ajanlar, ilaçlar, vitaminler ve diğer biyoaktif maddeler kullanarak hazırlanan ürün karışımlarının birden fazla şekilde intradermal ve subkütan dokuya enjekte edilmesi olarak tanımlanan mezoterapi işleminde, yüzeysel enjekte edilen ilaçların daha derine enjekte edilen ilaçlara oranla daha uzun süre kalmaktadır. Yüzeysel enjekte edilen solüsyonlar daha derin dokulara nüfuz etmektedir. Enjeksiyon ne kadar yüzeysel olursa, solüsyonun bölgede kalış süresi o kadar uzun olmaktadır (45).

Mezoterapi uygulamasında amaç, intradermal enjeksiyonlarla 4 mm derinliğe kadar uygulanan ilaçların bir havuz olacak şekilde bırakılmasıdır. Mezoterapi tekniğiyle hastalara verilen tedavi dozu ve ilaca bağlı yan etkiler azaltılmış ve etkinlik artırılmıştır. Mezoterapide kullanılan ürünler

suda çözünen ve birlikte uygulandığında çökme göstermeyen ilaç ya da karışımlardır. Kullanılan ilaçlar, tedavi endikasyonlarına göre gerekirse seyreltilerek patolojinin olduğu bölgeye çoklu enjeksiyonlar şeklinde belirli aralıklarla uygulamanın tekrarlanması sağlanır. Mezoterapi uygulamalarında 4, 6, 8 ve 13 mm'lik ince (27, 30, 32 G) iğne uçları tercih edilir. Uygulama elle yapılabildiği gibi mezoterapi tabancaları yardımıyla da uygulanabilmektedir. Deri lezyonlarında tedavide roller ve mikro iğneleme enstrümanları da günümüzde standart ve homojen tedavi için tercih edilmektedir. Mezoterapi seanslar şeklinde uygulanmaktadır. Bu seanslar akut durumlarda haftada iki kez kronik durumlarda haftada 1 kez olarak uygulanabilmektedir. Hastanın ağrı durumuna göre seans sayısı düzenlenir (42, 46).

Mezoterapide Hijyen Protokolleri

Mezoterapi uygulamalarının hijyen ve sterilizasyon kurallarına uygun, aseptik koşullarda ve tıbbi standartlara uygun biçimde gerçekleştirilmesi hayati öneme sahiptir. Hekim olmayan kişiler tarafından bu işlemin yapılması, hijyen standartlarına uyulmaması, yanlış tekniklerin kullanılması ve hatalı ürün karışımların yapılması sonucu literatürde bir takım yan etki olguları bildirilmiştir. Mezoterapi uygulaması sırasında enfeksiyon oluşma riski bulunabilir. Bu nedenle mezoterapi işleminin kesinlikle hijyenik bir ortam ve şartlarda hekim tarafından yapılması gerekmektedir. Enjeksiyonlar sonucunda cilt yüzeyinin geçildiği için enfeksiyon riski olabilir. Uygulama alanının temizliği ve sterilizasyonu önemlidir. Uygulama sonrası tedavi bölgesinin temiz ve hijyenik kalmasına özen gösterilmelidir. Enfeksiyon riskini azaltmak için gerekli önlemler alınmalıdır. Enjeksiyon bölgesini temiz ve hijyenik tutmak, enfeksiyon riskini azaltabilir. Özellikle ilk birkaç saat içinde bölgeye temas etmekten kaçınılmalıdır.

Olası Enfeksiyonlar ve Korunma Yöntemleri

Mezoterapi tedavisinin potansiyel yan etkileri genellikle hafif ila orta şiddette olup ağrı,

kızarıklık, morarma, kaşıntı, yanma, enfeksiyon riski, alerjik reaksiyonlar ve uygulama bölgesinde cilt pigmentasyonunda değişiklikler içerebilir. Mezoterapi işlemi sırasında cilt bariyeri geçildiği için enfeksiyon riski vardır. Ancak, steril bir ortamda ve tek kullanımlık iğnelerle yapılan doğru uygulamalarla enfeksiyon riski önemli ölçüde azalır. Mezoterapi uygulaması sırasında enfeksiyon riski olabilir ve bu risk, uygulamanın yapılacağı bölgenin temizliğine ve uygulamanın doğru şekilde yapılıp yapılmadığına göre değişebilir. Enfeksiyon riskini azaltmak için, mezoterapi uygulamasının temiz ve hijyenik ortamda yapılması, disposable malzemeler kullanılması ve asepsi ilkelerine uyulması gereklidir.

Ozon Terapisi

Ozon tedavisi olarak da bilinen ozon terapisi (OT); çeşitli hastalıkların tedavisine destek olmak amacıyla hastaların dolaşım sistemlerine ozon ve oksijen karışımı uygulanması işlemidir. Oksijenin kararsız bir formu olan ozon (O₃), atmosferde bulunan renksiz ve kokulu bir gazdır. OT, ozon gazının tıbbi amaçlarla kullanılmasıdır. Ozon gazı, oksijen moleküllerinin birleşmesi sonucunda oluşan bir formdur. OT, ozonun dezenfekte edici ve oksidatif özelliklerinden yararlanarak çeşitli hastalıkların tedavisine veya semptomların hafifletilmesine yardımcı olmak amacıyla uygulanmaktadır. Kan dolaşımını arttırma yeteneği, OT'yi sadece dolaşımla ilgili bozuklukların tedavisiyle sınırlandırmayıp birçok hastalıkta bozulmuş olan organik fonksiyonların yeniden düzenlenmesindeki etkisi nedeniyle tedavide kullanımını artırmıştır (47).

Ozon Terapisinin Tarihi ve Kullanım Alanları

Ozon, Alman kimyacı Christian Friedrich Schönbein tarafından 1900'lü yılların ortalarında keşfedilmiş bir gazdır (48). Schönbein, Basel'deki Senckenberg Doğa Araştırmaları Topluluğu'na suyun elektrolize maruz kalmasının pozitif elektrotta karakteristik bir koku ürettiğini bildirmiş ve bunu "elektriksel maddenin kokusu" olarak tanımlamıştır. Schönbein, yeni madde

için Yunanca ozein (odorant) kelimesinden esinlenmiş ve ozon adını teklif etmiştir (49). Ozon, oksitleme özelliğinden dolayı ilk olarak yer ve yüzeylerde dezenfeksiyon amacıyla ardından Monaco'da su sistemlerinin dezenfeksiyonunda da kullanılmıştır. Okside edici olmasından dolayı bakteri ve virüslerle sınırlı kalmayıp toksin ve mikroorganizmaların tamamında etkili olan bir gazdır. Ozon tüpünün icadıyla da ozon farklı alanlarda kullanılmaya başlanmıştır. Bu alanlardan birisi de medikal olarak ozonun kullanımıdır (50).

Medikal olarak ozonun ilk uygulamalarına yönelik bilgilerde farklılıklar görülmektedir. Literatür incelendiğinde bazı raporlarda Dr. J. Harvey Kellogg'un 1880 yılında ozonu kullandığı bildirilirken; bazılarında ise Birinci Dünya Savaşı sırasında Dr. Albert Wolff tarafından yaralı Alman askerlerinin kangren tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir. Dr. Edward Fisch tarafından 1932 yılında Alman cerrah Dr. Erwin Payr'ın diş tedavisinde uygulanmış ve Dr. Payr'ın bu alanla ilgilenmesiyle ozonun medikal kullanım alanları genişlemiştir. Bilimsel açıdan ilk olarak Dr. Payr 1935 yılında Berlin'de yapılan kongrede kendi olgularından oluşan bir rapor sunmuştur. Dr. Wolff tarafından 1974 yılında medikal ozon terapisinin uygulama prensiplerinin bildirmesiyle 1980 yılından itibaren medikal ozon tedavisi yaygın bir şekilde uygulanmaya başlamıştır. Birinci Dünya Savaşı'ndan sonra özellikle yara dezenfeksiyonu, yara iyileşmesi, Hepatit, artrit, disk hernisi, diş hastalıkları, sporcu yaralanmaları, kanser ve diğer hastalıklarda medikal ozon uygulanmıştır. Son zamanlarda medikal ozon estetik amacıyla da kullanılmaktadır (51, 52). Ozonun ameliyathanelerde ve cerrahi aletlerin dezenfeksiyonunda antiseptik olarak uygulanmasıyla birlikte izleyen zamanlarda ozon, tüberküloz tedavisinde ve Birinci Dünya Savaşı'nda askerlerin yaralarını tedavi etmede kullanılmıştır. Günümüzde medikal ozonun birçok hastalıkta farklı uygulama yollarıyla terapotik kullanım alanları vardır. Medikal OT uygulama yolları deri altı, kas içi, eklem içi,

insuflatif (vajinal, anal, üretral vb.), topikal, majör/minör otohemoterapi şeklindedir.

Uygulama Süreci ve Kullanılan Ekipman

Medikal ozon tedavisi parenteral (majör, minör, intrartiküler, intradiskal, subkutan vb.) tedavi ya da lokal (rektal, vajinal, dental, nazal vs.) tedavi olarak çeşitli yollardan uygulanabilmektedir.

- **Majör Otohemoterapi:** Majör otohemoterapi, medikal ozon uygulamasının en klasik yöntemi ve en bilinen uygulama şeklidir. Bu uygulamada kişiden intravenöz yolla bir miktar kan (200-250 ml) alınır ve uygun doz ozon gazı ile 5-10 dakika ozon/oksijen karışımı sağlandıktan sonra kişiye tekrar geri verilir. Ozon terapinin başlangıç dozunun, antioksidan etkinin başladığı sınır olan 15-20 µg/mL'nin baz alınmasının ve tedavide 10-80 µg/mL arasında yapılan uygulamaların güvenli doz aralığı içerisinde olduğu kabul edilmektedir. Sıklıkla olan uygulama 15-20 µg/mL'dan başlayarak, kişinin yaşına, hastalığın seyrine ve genel durumuna göre kademeli olarak 40 µg/mL kadar olan doz artırımlarını kapsamaktadır. Tedavi genelde haftada iki kez olmak üzere toplamda 10-12 seans uygulanmaktadır.

- **Minör Otohemoterapi:** Minör otohemoterapi, kişiden intravenöz yolla 3-5 ml kan alınması ve 10-20 µg/mL arasındaki uygun dozdaki ozon/oksijenle karıştırılarak kişiye intramusküler yolla enjekte edilmesidir. Spesifik olmayan immünoaktivatör etkisi dolayısıyla sıklıkla kullanılan bu yöntem, alerjik olgular, akne, fronkülozisin yanı sıra tendon ve ligament yaralanmalarında yaygın olarak uygulanmaktadır.

- **Lokal Uygulama:** Ozonun yaraların dezenfeksiyonu için kullanılmasıyla başlayan bu yöntem, ozonlanmış su, yağ ve kremlerin cilde uygulanarak ciltte oksijen ve oksijen radikale dönüşmesiyle etki göstermektedir. Yanık, yara ve yüzeysel cilt enfeksiyonlarında sıklıkla uygulanmaktadır.

- **Rektal / Vajinal Uygulama:** Genellikle çocuklarda ve damar problemi yaşayan erişkinlerde

rektal ya da vajinal yolla ozonun uygulanmasıdır. Çocuklarda 10-20 µg/mL arasındaki ozon-oksijen karışımı 10-30 ml hacminde, erişkinlerde ise 10-25 µg/mL arasındaki ozon-oksijen karışımı 150-300 ml hacminde uygulanabilmektedir. İşlem sonrası kişilerin birkaç dakika gazın kontrolünü sağlanması beklenmektedir.

- **Doğrudan Enjeksiyon:** Kas ağrıları, bazı bölgelerdeki yağların eritilmesi amacıyla doğrudan dokuya; artrit ve patolojik sertliklerde eklem içine enjekte edilmesi işlemidir.

Normalde ozon tedavisi 15-20 seans arasında haftada 1 veya 2 kez uygulanmaktadır. Tedavi protokolleri hastaya göre düzenlenmektedir. Hastanın iyileşmesi 5. ile 10. seanslar arasında olduğu kabul edilmekle birlikte 12. seansın sonra antioksidan savunma mekanizmasının harekete geçtiği düşünülmektedir.

Ozon Tedavisinde Hijyen Protokolleri

Ozon tedavisinin uygulanacağı ortamın hijyen koşullarının üst düzey olması gereklidir. Ozonlamanın el değmeden kapalı sistem yapılıp yapılmadığına dikkat edilmelidir. Ozon tedavisinde dikkat edilmesi gereken bir diğer konu ise kullanılan malzemenin orijinal olup olmadığıdır. Ayrıca, ozon tedavisinde kullanılan cihazların orijinal ve ileri teknolojiye dayalı cihazlar olması da oldukça önemlidir. Uygulama sırasında steriliteye ve antisepsiye çok dikkat edilmeli, uygun steril filtrelerin kullanılması gereklidir. Tüm tıbbi müdahalelerde olduğu gibi, ozon tedavisi sırasında da enfeksiyon riski mevcuttur. Bu risk, özellikle ozonun doğrudan vücut içine enjekte edildiği intravenöz, intramusküler veya subkutan uygulamalarda daha belirgin hale gelmektedir. Enfeksiyon komplikasyonlarının önlenmesi, uygulamanın mutlak steril koşullarda gerçekleştirilmesine bağlıdır.

Bu nedenle ozon tedavisi esnasında tek kullanımlık (disposable) malzemelerin tercih edilmesi, aseptik tekniklere titizlikle uyulması ve uygulama öncesi, sırası ve sonrasında hijyen kurallarına riayet edilmesi büyük önem taşır.

Olası Enfeksiyonlar ve Korunma Yöntemleri

Ozon tedavisi eğitim almış, pratik becerisi olan bir hekim tarafından steriliteye dikkat edilerek uygulandığında yan etkisi yok denecek kadar az olan bir uygulamadır. Medikal ozon tedavisi uygun, steril malzemeler kullanıldığında ve tedavi prensiplerine göre uygulandığında herhangi bir enfeksiyon riskine yol açmaz. Aksine birçok enfeksiyon durumunda (Hepatit B, Hepatit C, herpes enfeksiyonları, herpes zoster, papillomavirus enfeksiyonları gibi viral enfeksiyonlarda; çeşitli bakteriyel, fungal, parazitik enfeksiyonlarda) tedavi amacıyla kullanılmaktadır (53).

Hijyen Protokolleri ve Enfeksiyon Kontrolü

Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp (GETAT) uygulamalarının etkinliğinin yanı sıra, bu uygulamalar sırasında hasta ve sağlık hizmeti sunanların güvenliği için hijyen protokollerine uyulması ve enfeksiyon kontrolünün sağlanması da hayati öneme sahiptir. Uygulama öncesi hastaların öyküsü ve mevcut sağlık durumları, altta yatan enfeksiyon riskleri ve alt hastalıkları değerlendirilmelidir. Akut bir enfeksiyonu olan hastalar, iyileşip enfeksiyon kontrolü sağlanana kadar GETAT uygulamalarından uzak tutulmalıdır. Bağışıklık sistemi zayıf olan hastaların belirlenmesi ve gerekli önlemlerin alınması da önemli bir konudur (2, 54, 55).

Genel Hijyen Prensipleri ve enfeksiyon kontrolü

Hijyen, GETAT uygulamalarında enfeksiyonların önlenmesi için en önemli esaslardan biridir. Özellikle akupunktur, kupa terapisi, hacamat ve diğer invaziv yöntemlerde, sterilizasyon kurallarına uyulması zorunludur. İnvaziv girişimlerde steril malzemelerin kullanımının yanı sıra, uygulama alanının temizliği, el hijyeni gibi kontrol önlemleri, enfeksiyon riskini azaltmada önemli rol oynar. Bu uygulamalar sırasında uygun hijyen protokollerine uyulmadığında, bakteriyel, viral, paraziter ve fungal enfeksiyonların gelişme ve yayılma riski artmaktadır. GETAT uygulamalarında uyulması gereken birçok hijyen

kuralları vardır (2).

Bu kurallar aşağıda sırasıyla verilmiştir:

- El hijyeni ve eldiven kullanımı: GETAT uygulamalarında enfeksiyonların önlenmesinde temel adımlardan biri el hijyenidir. El hijyeni, antibiyotiklere dirençli olanlar da dahil olmak üzere mikroorganizmaların yayılmasını engelleyerek hem sağlık çalışanlarını hem de hastaları koruma açısından kritik öneme sahiptir. Hastalar ve yakınları, sağlık personelinin ellerini temizlemelerini isteme ve hatırlatmada rol oynayabilirler. DSÖ tarafından “El Hijyeni Beş Endikasyon Kuralı” gereği sağlık çalışanları hastaya temas öncesi, aseptik işlem öncesi, vücut sıvıları ile temas sonrası, hastaya temas sonrası ve hastanın çevresindeki cansız yüzeylerle temas sonrası mutlaka el hijyeni sağlamalıdır. El hijyeni yapılırken öncelikle saat, yüzük, bileklik vs. takılar çıkarılmalıdır. Ellerde gözle görülebilen herhangi bir kirlenme varsa; suyla ıslatıldıktan sonra 3-5 ml sıvı sabun alınarak 30 sn. süre ile ellerin iç ve dış yüzeyleri, parmak araları, başparmak ve avuç içleri iyice ovuşturulmalı, daha sonra her bir elin parmak uçları, diğer elin avucunda sırasıyla ovuşturulduktan sonra durulanarak kâğıt havlu ile kurulmalı ve musluk eldeki kâğıt havluyla kapatılmalıdır. Elde gözle görülemeyen kirlenme yoksa; 3-5 ml %60-95 alkol bazlı el dezenfektanı alınarak eller aynı işlemlerle kuruyana kadar ovalanabilir. Cerrahi bir işlem yapılacaksa 3-5 dk süreyle rehberlere uygun bir şekilde cerrahi el yıkama yapılmalıdır. Sağlık hizmetlerinde, yanlış eldiven kullanımı da mikroorganizmaların hastadan hastaya yayılmasına sebep olmaktadır. Eldiven giyilmeden önce ve çıkarıldıktan sonra mutlaka el hijyeni sağlanmalıdır. Eldiven kullanımını gerektirecek durum ortadan kalkar kalkmaz diğer alanlara dokunulmadan çıkarılıp en yakın tıbbi atık poşetine atılarak el hijyeni sağlanmalıdır. Sağlık personelinin elinde küçük boyutta çizik, kesikli yara veya cilt bütünlüğü bozulmuş bir durum varsa kapatılarak çalışılmalı, büyük ise iyileşene kadar riskli alanlardan uzak durulmalıdır (2, 56-63).

- Kişisel koruyucu ekipman (KKE) kullanımı:

Sağlık personelleri enfeksiyon hastalıklarına maruz kalma açısından yüksek ve çok yüksek risk grubunda yer almaktadır. Bu yüzden sağlık hizmeti verilirken sağlıkçıların hem kendilerini hem de hastayı korumaları açısından KKE kullanmaları büyük önem taşımaktadır. KKE herhangi bir tehlikeden ve enfeksiyon bulaşından korunmak için kullanılan özel kıyafet ve malzemelerdir. Bunlar; eldiven, maske, önlük, gözlük veya yüz koruyucu gibi ekipmanlardır. Bu ekipmanları sağlayanların doğru bir seçim yapması ve uygulayıcılar tarafından doğru bir şekilde kullanılması önemli bir konudur. Kullanılan ekipmanlar tek kullanımlık değil ise her hasta sonrası uygun şekilde yıkanmalı, dezenfekte edilmeli, kurutulmalı ve kapalı dolaplarda saklanmalıdır (57).

- Standart önlemler ve izolasyon önlemleri: Herhangi bir enfeksiyon hastalığı tanısı olup olmadığına bakılmaksızın her hastaya uygulanması gereken önlemlerdir. Bunlar; el hijyeni kuralları, kesici ve delici aletlerin (enjeksiyon iğneleri, bistüriler vb.) kesinlikle tekrar kılıfına geçirilmeden, delinmeye dirençli ve sızdırmaz özellikteki sarı tıbbi atık kutularına atılması, riskli durumlarda uygun KKE kullanılması gibi önlemlerdir. Herhangi bir enfeksiyon hastalığı taşıyan hastalar ise, hastalığın türüne göre ayrıca damlacık, solunum ve temas izolasyonuna alınmalıdır (60, 64, 65).

- Aletlerin sterilizasyon ve dezenfeksiyonu: Sterilizasyon ve dezenfeksiyon, sağlık hizmetlerinde enfeksiyon kontrolünün vazgeçilmez unsurlarıdır. Doğru yöntemlerin seçimi ve uygulanması, hasta güvenliğini sağlamak ve sağlık çalışanlarını korumak için kritik öneme sahiptir. Mümkün olduğu kadar tek kullanımlık (iğne, spanç, eldiven vs.) malzemeler tercih edilmelidir. Tek kullanımlık malzemeler her kullanım sonrası uygun şekilde imha edilmelidir. Tekrar kullanılabilir tüm aletler ve ekipmanlar her hasta sonrasında prosedürlere uygun bir şekilde sterilize veya dezenfekte edilerek uygun şekilde saklanmalıdır (2, 35, 66, 67).

- Hasta hijyeni: Hastalar, uygulama öncesi ve sonrası gerekli hijyen işlemlerini yerine getirmelidir.

- Çevresel hijyen: GETAT uygulamalarının yapıldığı ortamlar düzenli olarak ve gerektiğinde temizlenmeli ve dezenfekte edilmelidir (2, 35, 68).

- Atık yönetimi: Kullanılmış tüm tıbbi atıklar, kan ve vücut sıvıları uygun şekilde kapalı kaplarda toplanmalı ve yetkili firmalar tarafından bertaraf edilmelidir (68, 69).

- Aşı ve sağlık kontrolleri: GETAT uygulayıcılarının, sağlık personeli olarak belirli aşıları yaptırmış olmaları (Hepatit B, tetanoz, influenza) enfeksiyon riskini azaltmaktadır. Düzenli sağlık kontrolleri ve taramalar, uygulayıcıların sağlıklı kalmasını ve enfeksiyon yayılımını önlemektedir (2, 7, 62).

Dezenfeksiyon ve Sterilizasyon Yöntemleri

Kullanılan tıbbi alet ve malzemelerin dezenfeksiyon ve sterilizasyonu sağlık hizmetlerinin güvenli ve etkili sunumu açısından temel bir uygulamadır. Öncesinde bazı kavramları açıklamak gerekirse; antisepsi, canlı dokuların üzerinde veya içindeki mikroorganizmaların öldürülmesi ya da üremelerinin engellenmesi işlemidir. Asepsi ise mikroorganizmaların korunmuş alana geçişlerinin önlenmesi ve bunun devamlılığının sürdürülmesidir. Bu amaçlar doğrultusunda yapılan tüm işlemler aseptik teknik olarak isimlendirilmektedir. Temizlik, tıbbi aletlerde öncelikle yapılması gereken işlemdir. Temizlik terimi kir ve organik haldeki maddelerin mekanik açıdan uzaklaştırılmasıdır. Dekontaminasyon ise, dezenfeksiyon/sterilizasyon işlemi öncesinde, kimyasal ve/veya fiziksel yöntemlerle bir ortam yüzeyi ya da aletlerden organik madde ve patojenleri uzaklaştırmak, güvenli hale getirilmesi işlemidir. Sterilizasyon, cansız bir cismin üzerinde bulunan tüm mikroorganizmaların, sporlar dahil olmak üzere öldürülmesidir. Dezenfeksiyon ise, cansız cisimler üzerinde bulunan mikroorganizmaların (bakteri sporları hariç) yok edilmesi ya da üremelerinin durdurulmasıdır (35, 66, 67).

Dezenfeksiyon

Dezenfeksiyon işlemi, sporlu bakterileri ve

mikobakteriler üzerindeki etkisine göre yüksek, orta ve düşük düzey dezenfeksiyon olmak üzere üç düzeyde sınıflandırılmaktadır.

- **Yüksek düzey dezenfeksiyon:** Bakteri sporlarını yok etme özelliği olan kimyasal dezenfektanlarla sterilizasyon için gereken zamandan (3 saat) daha kısa sürede (5-20 dakika) uygulanan, bazı bakteri sporları dışında tüm mikroorganizmaları inaktive edebilen dezenfeksiyon yöntemidir.

- **Orta düzey dezenfeksiyon:** Bakteri sporlarını etkilemeyen, ama diğer mikroorganizmalar ve mikobakteriyi (genelde 15 dakikada) etkileyen dezenfeksiyon yöntemidir.

- **Düşük düzey dezenfeksiyon:** Bakteri sporları, mikobakteri ve zarfsız virüslere etkisiz, fakat bazı vejetatif mikroorganizmalar ile zarflı virüslere (genelde 10 dakikada) etkili dezenfeksiyon yöntemidir (35, 36, 66, 67).

Spaulding ve Robert Koch Enstitüsü Sınıflaması

Yeniden kullanılacak tıbbi aletlerin, enfeksiyon gelişimi açısından, uygun temizlik/dezenfeksiyon/sterilizasyon işlemleriyle güvenli hale getirildikten

sonra kullanılması gerekmektedir. Tıbbi cihazlar Spaulding sınıflamasına göre, temas ettiği vücut bölgesi ve enfeksiyon gelişme riski göz önüne alınarak; “kritik, yarı kritik ve kritik olmayan” olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. Kritik aletler; implantlar, cerrahi aletler, kateterler gibi steril doku ve vücut boşluklarına uygulanan aletlerdir. Bu aletler mutlaka steril olmalı veya yüksek düzey dezenfeksiyon işlemi yapılmalıdır. Yarı kritik olan aletler; mukoza veya bütünlüğü bozulmuş deri ile temas eden aletlerdir ve bu aletlere mümkünse sterilizasyon işlemi uygulanmalı, mümkün değilse yüksek düzey dezenfeksiyon işlemi yapılmalıdır. Kritik olmayan aletler; bütünlüğü bozulmamış olan deri ile temas eden aletlerdir ve düşük düzey dezenfeksiyon işlemi yapılmalıdır (Tablo 1). Robert Koch Enstitüsü sınıflamasında ise tıbbi aletler Spaulding sınıflamasına benzer ancak burada sadece enfeksiyon riskine göre sınıflandırma yapılmayıp, yapısına göre de detaylandırılmıştır. Bu sebeple Spaulding sınıflandırılmasındaki sorunları büyük oranda çözen daha detaylı bir sınıflandırmadır (35, 36, 66, 67).

Tablo 1. Kimyasal Dezenfektanların Dezenfeksiyon Düzeyleri

Dezenfektan - Konsantrasyon	
Yüksek düzey dezenfeksiyon	Gluteraldehit %>2
	Hidrojen Peroksit %7,5
	Ortoftitalaldehit %0,55
	Perasetik Asit %0,23
	Hipoklorid 10000 ppm
Orta düzey dezenfeksiyon	Etil - İzopropil Alkol %70
	İyot 50-150 ppm
	Fenol Bileşikleri %0,4-5
	Hipoklorid 1000-5000 ppm
Düşük düzey dezenfeksiyon	Kuartern Amonyum Bileşikleri %0,5-2
	Etil - İzopropil Alkol %70
	Hipoklorid 50-500 ppm

Uygulama

Dezenfeksiyon işlemlerinin sırası aşağıda verilen sıraya göre yapılması gerekmektedir:

1. Ön Temizlik: Tıbbi aletler kullanıldıktan sonra üzerindeki kan / sekresyon vs. vücut çıktıları kurumadan akan suda yıkanarak mekanik ön temizliği yapılmalıdır.

2. Kurutma: Ön temizlik işlemi yapılan tıbbi aletler, dezenfeksiyon işlemi öncesinde iyice kurulanmalıdır.

3. Dezenfeksiyon: Dezenfeksiyon amacıyla kullanılacak kimyasal dezenfektanlar üretici firmanın önerileri doğrultusunda direkt veya uygun oranda sulandırılarak kullanılabilir. Aletler dezenfeksiyon öncesi ayrılabilen tüm parçaları ayrılmış olarak solüsyon içerisine tamamen daldırılmalı ve önerilen bekleme süresine uyulmalıdır. Dezenfektan içeren solüsyonlar azaldıkça üstüne ilave yapılmamalıdır. Dezenfektanların hazırlandığı odanın havalandırılması iyi olmalıdır. Solüsyonlar güneş ışığına maruz kalmamalıdır. Dezenfektan kullanan kişiler eldiven, önlük ve maske gibi KKE kullanmalıdırlar.

4. Durulama: Dezenfeksiyon işlemi tamamlandıktan sonra steril distile suyla iyice durulanmalıdır.

5. Kurulama: Distile suyla durulanan aletler mutlaka kurulanmalıdır.

6. Saklama: Kurutulmuş tıbbi aletler, yeniden kullanılıncaya kadar kontaminasyona sebep olmayacak bir şekilde kapalı kutularda saklanmalıdır (35, 36, 66, 67).

Yer-Yüzey Dezenfeksiyonu

Etkin bir dezenfeksiyon için iki önemli belirleyici vardır. Bunlar; uygulayan personelin deneyimli olup kurallara uyması ve kullanılan dezenfektanın etkinliği ve temas süresidir. Dezenfektanın hızlı şekilde antimikrobiyal etki gösterebilmesi için belirli bir zaman dilimi gereklidir. Etkin bir dezenfeksiyon için temizlik işlemi sonrası deterjan kalıntıları uzaklaştırılmalı ve ardından dezenfeksiyon işlemi yapılmalıdır. Yüksek riskli olan alanlarda yerler ve

ellerle sık temas edilen tüm yüzeyler günlük temizliğe ek olarak günde en az bir kez ve kirlenme olduğunda dezenfekte edilmelidir (35-37, 66-68).

Yüzey dezenfeksiyonunda kullanılabilecek ajanlar (Sağlık Bakanlığı biyosidal ürün ruhsatı olmalıdır):

- Çamaşır suyunun 1/10-1/100 sulandırılmış hali veya 500-5000 ppm klor içeren tabletler
- Dörtlü amonyum bileşikler
- Süper okside su
- Klor dioksit
- Hidrojen peroksit
- Glukoprotamin
- Polihekzametilen biguanid

Sağlık hizmeti sunulan ortamlarda kan veya vücut sıvılarının (idrar, kusmuk, plevra sıvısı, periton sıvısı vb.) dökülme veya saçılmalarında uygun bir şekilde uzaklaştırılması gerekmektedir. Dökülen kan ve diğer vücut sıvılarının miktarı önemlidir. Öncelikle dekontaminasyon yapacak personel KKE giymelidir. Eğer dökülen sıvı az miktarda ise; deterjan-dezenfektan emdirilmiş bez veya tek kullanımlık ticari dezenfektanlı bezler ile silmek yeterlidir. Çok miktarda sıvı dökülmüş ise dezenfektanlı talaş veya klor salan granül dökülen sıvının üzerine dökülür. Cam kırığı varsa bir forseps ile toplanır. Bunlar sağlanamıyorsa kâğıt havlu gibi emici bir materyal ile dökülen sıvı tamamen uzaklaştırılıp tıbbi atık kutusuna atılır. Dökülme olmuş alan daha sonra su ve deterjanla temizlenerek dezenfektana daldırılmış (1/10 sulandırılmış çamaşır suyu, 5,000 ppm klor veya eş değeri etkinlikte dezenfektan) bez veya aynı etkinlikteki dezenfektan emdirilmiş ticari bezler ile silinir ve kuruması beklenir. Paslanmaz çelik veya diğer metal yüzeyler üzerine dökülme olmuş ise dezenfektanın (özellikle klor bazlı) kendiliğinden kuruması beklenmemeli, temas süresi sonunda başka bir bezle klor bazlı dezenfektanın uzaklaştırılması sağlanmalıdır. Alkol bu amaçla kullanılmamalıdır. Klor bazlı dezenfektanlar idrar ve kusmuk gibi asidik vücut sıvılarının üzerine doğrudan dökülmemelidir (36, 37, 68, 69).

Sterilizasyon

Sterilizasyon süreci, sağlık hizmeti amacıyla kullanılıp kontamine olmuş malzemelerin kullanım alanından alınarak taşıma, yıkama sonrası paketlenme yapıp steril edilmesi ve yeniden kullanım anına kadar korunarak saklanması basamaklarının tümünü içeren işlemler dizisini kapsar. Sterilizasyon işleminin güvenilir olması, bu prosedürlerin her birine uygun olarak yürütülmesi, gerekli kontrollerin düzenli aralıklarla yapılması ve kayıtların doğru bir şekilde tutulmasına bağlıdır (37).

Sterilizasyon Yöntemleri

1. Kuru ısı ile sterilizasyon
2. Basıncılı buhar sterilizasyonu yöntemi
3. Düşük sıcaklıkta sterilizasyon yöntemi
 - a. Etilen oksit ile gaz sterilizasyon
 - b. Hidrojen peroksit gaz plazma sterilizasyonu
 - c. Perasetik asit sterilizasyonu
4. Radyasyon ile sterilizasyon (Gama, X, Ultraviyole, Elektron ışınları)
5. Diğer sterilizasyon yöntemleri (Formaldehid, Flaş, Ozon, Klor dioksit vs.) (36, 66).

Uygulayıcı Eğitimi ve Bilinçlendirme

GETAT uygulamalarında hasta ve uygulayıcı güvenliği, yapılan işlemin etkinliği, hijyen ve enfeksiyon kontrolü oldukça önemlidir. Modern tıbbi tedavilerle birlikte GETAT yöntemlerini kullanan hastalarda, her iki tedavi yönteminin birbirleriyle olan etkileşimlerinin dikkatlice değerlendirilmesi gerekir. Uygulayıcıların bu konularda bilgi ve becerilerini artıracak eğitimler alarak, sertifikalı ve yetkin olmaları gerekmektedir. GETAT uygulamalarının güvenli, etkili ve etik çerçevede yürütülebilmesi, uygulayıcıların güncel bilgi ve becerilerle donatılmasıyla mümkündür. Bu amaçla, çeşitli eğitim ve bilinçlendirme yöntemlerinin sistematik biçimde kullanılması büyük önem taşımaktadır.

GETAT uygulayıcılarına yönelik eğitim programlarının içeriği; Temel tıbbi bilgiler, Uygulama teknikleri, Etik ve yasal sorumluluklar, Hijyen ve enfeksiyon kontrolü gibi başlıkları kapsamalıdır. Hijyen ve enfeksiyon kontrolü kapsamında özellikle KKE kullanımı, Viral hepatitler ve dirençli mikroorganizmalar, Tıbbi malzeme ve aletlerin doğru kullanımı, Tıbbi cihazların dezenfeksiyon ve sterilizasyon yöntemleri ile Uygulama ortamlarının temizlik ve dezenfeksiyonu konulara vurgu yapılmalıdır. Bu temel eğitimin ardından, sürekli mesleki gelişim için periyodik olarak düzenlenen seminerler, hizmet içi eğitimler ve bilimsel gelişmeleri takip etmeye yönelik araştırma faaliyetleri teşvik edilmelidir. DSÖ, ulusal GETAT kuruluşları ve akademik kurumlar, bu süreçte önemli kaynaklar ve destekleyici kuruluşlar olarak rol oynamaktadırlar. Sağlık kurumlarında başta hepatitli hastalara hizmet sunan sağlık çalışanları olmak üzere diğer tüm sağlık çalışanları ve sağlık hizmetleri sınıfı dışında çalışan diğer personele viral hepatitler konusunda eğitimler düzenlenmesi önemlidir (2, 37, 38, 66, 70, 71).

Olası Enfeksiyonlar ve Komplikasyonlar

GETAT uygulamaları ile ilişkili bazı enfeksiyon riskleri ve komplikasyonlar bulunmaktadır. Bu riskler, kullanılan uygulama yöntemine, uygulayıcının hijyen uygulamalarına ve hastanın demografik özelliklerine ve alt hastalıklarına bağlı olarak değişiklik gösterebilir.

Bakteriyel, Viral ve Parazitik Enfeksiyonlar ve Belirtileri

GETAT uygulamalarından özellikle akupunktur, kupa, hacamat ve sülük tedavisi gibi kan teması olan invaziv girişim yapılan uygulamalarda HBV, HCV, HIV ve çok ilaca dirençli mikroorganizma gibi enfeksiyon etkenleri bulaşabilir ve bu durum yapılan çalışmalarla da kanıtlanmıştır (2, 7, 72). Örneğin, sülük tedavisinin her bireye uygulanması mümkün değildir. Enfeksiyon oluşumunun yanı sıra kanama da en sık görülen yan etkilerindendir. Ayrıca sülüğün sindirim kanalındaki bakteriler pnömoni, sepsis ve

gastroenterit gibi sistemik rahatsızlıklara sebep olmaktadır (73). Hacamat sonrası akut dönemde de eritem, kanama, şişlik, rahatsızlık hissi, terleme, hafif baş ağrısı, karıncalanma ve sıcak basma hissi gibi komplikasyonlar görülebilir. Ayrıca literatürde ciltte laserasyon, pigmentasyon ve senkop gibi komplikasyonlar da bildirilmiştir (74).

Akupunktur, birçok hastalığın tedavisinde destekleyici bir yöntem olarak kullanılmakla birlikte, çeşitli yan etkiler ve komplikasyon riski de taşımaktadır. Bu yan etkiler çoğunlukla iğnelerin yeterince steril olmaması, iğnelerin yanlış bölgelere batırılması, uygulama sırasında hastaların hareket etmesi ya da iğnenin üretim hatasından kaynaklanabilmektedir. Özellikle hematoloji/onkoloji hastalarında kemoterapi gibi uygulamalarla bağışıklık sistemi zayıfladığından, steril olmayan bir iğneden enfeksiyon bulaşma riskleri çok daha yüksektir. Gelişebilecek diğer yan etkilerden bazıları ise; kanama, sinir hasarı morarma, yorgunluk hissi, baş dönmesi, uyuklama, sersemlik ve işlem sırasında ağrıdır. Ayrıca, akupunkturun beklenen etkiyi vermediğini bildiren çalışmalar da mevcuttur (75, 76).

Kupa ile ilgili yapılan araştırmalarda kupa uygulamasında en sık görülen komplikasyonun demir eksikliği anemisi olduğu bildirilmiştir. Diğer çalışmalarda; herpes enfeksiyonu, dermatit, ciltte pigmentasyon ve laserasyon, kardiyak hipertrofi, servikal epidural apse ve ağrıda artış olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, kupa uygulama sonrası erken dönemde kanama, dairesel ekimoz, eritem, hafif baş ağrısı, şişlik, rahatsızlık hissi, ağrı, sıcaklık basma hissi, terleme, ve karıncalanma görülebilirken; kesi bölgesinde daha geç dönemde morarma, skar, hiperpigmentasyon görülebilir (77, 78).

Fitoterapi, bitki kaynaklı tedavi anlamına gelmektedir. Bitkisel tedaviler, geleneksel tıbbın en yaygın uygulamalarından biridir. Bitkisel tedavinin kökeni, Hindistan ve Çin gibi bölgelere dayanır. Tıbbi bitkiler, modern ilaçların geliştirilmesinde önemli bir rol oynamakta; aynı zamanda ilaç sanayisinde biyolojik

kaynaklı yeni moleküllerin keşfi için de potansiyel sunmaktadır. Bitkisel ilaçlar genellikle doğadan toplanan bitkilerin çeşitli yöntemlerle hazırlanmasıyla elde edilir. İnsanlık tarihi boyunca birçok enfeksiyon hastalığı da, bitkisel ilaçlar kullanılarak tedavi edilmiştir. Ancak, bitkisel ilaçların hazırlanmasında su ve toprak önemli bulaş kaynaklarıdır. Bitkilerin toplanma, işlenme ve saklanma süreçlerinde hijyen kurallarına uyulmaması, enfeksiyon hastalıklarına neden olabilir. Kullanılan suların temiz ve güvenilir olması gerekir (79). Bitki, sebze, meyve, su, toprak, vs. yollarla bulaşan ve halk sağlığı için risk teşkil eden *Taenia solium*, *Echinococcus granulosus*, *E. multilocularis* ve *T. gondii*, *Acanthamoeba*, *Ascaris lumbricoides*, *Blastocystis* gibi birçok parazit bulunmaktadır (80, 81).

Enfeksiyonların Tedavi Yöntemleri

Bakteriler, mantarlar, virüsler ve parazitlerin sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde, uzmanlar öncelikle hastanın genel sağlık durumuna, hastalığın şiddetine ve türüne göre çeşitli yöntemler kullanırlar. Antibiyotikler, bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan ilaçlardır. Penisilin, sefalosporinler, makrolidler ve tetrasiklinler gibi farklı antibiyotik sınıfları bulunur. Antibiyotikler, bakterilerin hücre duvarı sentezini, protein sentezini veya DNA replikasyonunu engelleyerek etki gösterirler. Antibiyotik direnci, günümüzde önemli bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu yüzden antibiyotiklerin bilinçli ve doktor kontrolünde kullanılması önemlidir. Antiviral ilaçlar viral enfeksiyonların tedavisinde kullanılan farmakolojik ajanlardır. Bu ilaçlar, virüslerin konak hücreye girişini, replikasyonunu ya da yeni virüs partiküllerinin hücre dışına yayılmasını engelleyerek etki gösterirler. Klinik kullanımı yaygın olan antiviral ilaçlar arasında oseltamivir ve zanamivir, acyclovir ve valacyclovir ile antiretroviral grubu ilaçlar yer almaktadır. Antiviral ilaçların, virüslerin mutasyon geçirme ve direnç kazanma potansiyeli nedeniyle dikkatli kullanılması gereklidir. Antiparaziter ilaçlar,

parazit enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan metronidazol, albendazol, mebendazol ve permectrin gibi ilaçlardır (82-87).

Enfeksiyon Riskini Azaltma Stratejileri

Günümüzde birçok insan, sağlığını korumak ve geliştirmek için veya mevcut tedavisine destek amaçlı GETAT uygulamalarına yönelmektedir. Bu nedenle GETAT uygulayıcılarının enfeksiyon kontrolü konusunda bilgi düzeylerinin artırılması büyük önem taşımaktadır. Yöntemlerin kullanım amacı, uygulama şekli, etkinliği ve olası riskleri hem uygulayıcı hem de hasta açısından net bir şekilde anlaşılmalı ve aktarılmalıdır (88). Hem hastanın hem de uygulayıcıların enfeksiyonlardan korunabilmesi için KKE kullanımının doğru ve yerinde olması önemlidir. Çapraz bulaşın önlenmesinde özellikle el hijyeni ve eldiven kullanımına çok dikkat edilmelidir. Literatürde, kontamine eldivenler yoluyla enfeksiyon bulaş riskinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, el hijyenine uyum ve doğru eldiven kullanımı konularında periyodik eğitimlerin verilmesi, ayrıca gözlemsel çalışmalarla uygulamaların izlenerek iyileştirilmesi gerekmektedir.

GETAT uygulamalarıyla kan yoluyla bulaşan enfeksiyonların bulaşabileceği birçok çalışma ile gösterildiğinden işlemlerin her basamağında sanitasyonun kontrolü gereklidir. Sağlık personellerinin periyodik olarak sağlık kontrollerinin yapılması ve bağışıklık durumunun kontrol edilerek aşı ihtiyacı olan personellere mevcut olan aşılarda aşılınması sağlanmalıdır. GETAT uygulamalarının güvenliğini sağlamak amacıyla, tüm uygulama merkezlerinde evrensel enfeksiyon kontrol önlemlerini kapsayan güçlü rehberlerin ve protokollerin oluşturulması gereklidir. Steril tek kullanımlık malzemelerin tercih edilmesi, dezenfeksiyon/sterilizasyon protokollerine eksiksiz uyulması, ortam temizliği, KKE kullanımına dikkat edilmesi ve standart enfeksiyon kontrol önlemlerine tam uyum GETAT uygulamalarında enfeksiyonun yayılımını önlemede temel stratejilerdir (2, 37, 62, 63, 89).

GETAT uygulamalarında enfeksiyon kontrolü ve hasta güvenliği

GETAT uygulamaları, modern tıbbın yanında birçok hasta tarafından tercih edilen alternatif tedavi yöntemlerini içerir. Ancak, bu uygulamaların güvenli bir şekilde yürütülmesi, hijyen ve enfeksiyon kontrolüne sıkı sıkıya bağlıdır. Hasta güvenliği açısından hijyenin önemi, GETAT uygulamalarında kullanılan malzemeler, ortam ve uygulayıcıların hijyen protokollerine uygun davranışlarıyla doğrudan ilişkilidir.

Özellikle akupunktur, mezoterapi, kupa terapisi gibi cilt bütünlüğünü bozan uygulamalarda, sterilizasyonun önemi büyüktür. DSÖ'nün Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Stratejisi (2014-2023) raporunda, bu tür uygulamaların enfeksiyon riskini en aza indirmek için steril ve tek kullanımlık malzemelerle yapılmasının zorunlu olduğu vurgulanmıştır. Aynı şekilde, sülük tedavisi gibi biyolojik materyallerin kullanıldığı uygulamalarda, sülüklerin tek kullanımlık olması ve tedavi sonrası uygun şekilde imha edilmesi gerekmektedir. Bu durum, hastalar arası enfeksiyon geçişini önlemek açısından kritik bir öneme sahiptir (90).

GETAT uygulamalarında hijyenin sağlanması, yalnızca malzeme ve ekipman sterilizasyonu ile sınırlı kalmamalıdır. Uygulayıcıların kişisel hijyen kurallarına uyması, düzenli el yıkama ve dezenfeksiyon işlemlerini titizlikle yapması da gereklidir. CDC'nin Enfeksiyon Kontrol Kılavuzu'nda vurgulandığı üzere, uygulayıcıların ellerini her hasta öncesi ve sonrasında uygun şekilde yıkaması ve dezenfekte etmesi, hastalar arasında enfeksiyonun yayılmasını engellemenin en etkili yollarından biridir (91).

Hasta güvenliği açısından, GETAT uygulamalarının yapıldığı ortamın hijyenik olması da büyük önem taşır. Tedavi odalarının düzenli olarak temizlenmesi ve dezenfekte edilmesi, kontamine olmuş yüzeylerin uygun şekilde sterilize edilmesi gerekmektedir. Bu bağlamda, DSÖ'nün sağlık kuruluşlarına yönelik çevre temizliği rehberine göre, tedavi alanlarının günlük

olarak dezenfekte edilmesi ve yüksek riskli yüzeylerin her kullanım sonrasında temizlenmesi gerektiği belirtilmiştir (92).

Sonuç olarak, GETAT uygulamalarında hijyenin sağlanması, hasta güvenliğinin korunması için vazgeçilmez bir unsurdur. Uygulayıcıların yeterli eğitim alması, hijyen protokollerine sıkı sıkıya uyması

ve kullanılan malzeme ve ortamların uygun şekilde sterilize edilmesi, bu tür uygulamaların güvenliğini artıracaktır. Bu önlemler, hem hastaların hem de uygulayıcıların sağlığını korumanın yanı sıra, GETAT yöntemlerinin etkinliğini ve toplumda kabul görmesini de destekleyecektir (93).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Söylemez F, Güneş G. Aile sağlığı merkezine başvuran hastalarda geleneksel ve tamamlayıcı tıp kullanımı ve etkileyen faktörler. Kırıkkale Üni Tıp Fak Derg, 2023;25(3): 421-30.
2. Toptan H, Kaya T, Altındış S. Geleneksel ve tamamlayıcı tıp (GETAT) uygulamalarında enfeksiyon kontrol önlemleri, hijyen ve çalışan/ hasta güvenliği. J Biotechnol and Strategic Health Res, 2019;3(Özel Sayı):168-72.
3. World Health Organization (WHO). Traditional, Complementary and Integrative Medicine, 2024, Erişim adresi: https://www.who.int/health-topics/traditional-complementary-and-integrative-medicine#tab=tab_1, Erişim tarihi: 20.07.2024.
4. World Health Organization (WHO). WHO traditional medicine strategy: 2014-2023. 2013, Erişim adresi: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241506096>, Erişim tarihi: 20.07.2024.
5. Arpacı O. Sağlık Bakanlığı tarafından kabul edilen geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamaları ve bunların hukuka uygunluğunun değerlendirilmesi. Dokuz Eylül Üni Hukuk Fak Derg, 2021;23:1245-307.
6. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı. Resmi Gazete, Geleneksel Tıp Uygulamaları Yönetmeliği. 2014, Erişim adresi: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2014/10/20141027-3.htm>. Erişim tarihi: 20.07.2024.
7. Ozlu A, Alkan S, Demiray E, Öntürk H, Akar Ş. Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu öğrencilerinin geleneksel ve tamamlayıcı tıp ve ilişkili enfeksiyon kontrol önlemleri hakkında bilgi düzeylerinin incelenmesi. Dokuz Eylül Üni Hukuk Fak Derg, 2022;36(1): 25-34.
8. Şenol Y, Erdemli B, Demirezen M. Tıp fakültesi öğrencilerinin geleneksel ve tamamlayıcı tıp hakkındaki bilgi ve davranışlarının incelenmesi. Ana Gün Tıp Derg, 2020;2(1): 6-12.

9. Şahan D, İlhan MN. Geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamaları ve halk sağlığı açısından değerlendirilmesi. *Gazi Sağ Bil Derg*, 2019; 4(3): 12-9.
10. Acar HV. Türk halk hekimliğinde akupunktur ve bağlantılı teknikler. *Mersin Üni Tıp Fak Lokman Hekim Tıp Tar Folk Tıp Derg*, 2016; 6(1): 10-8.
11. Kavaklı A. Akupunktur. *Fırat Tıp Derg*, 2010; 15(1): 1-4.
12. Kartal Ö, Çalışkaner Z, Şener O. Astım ve allerjik hastalıklarda akupunktur tedavisi. *TAF Prev Med Bull*, 2011; 10(1): 107-14.
13. MİT ŞS. Akupunktur. *Türkiye Klinikleri Traditional and Complementary Medicine-Special Topics*. 2014; 5(1): 8-13.
14. T.C. Sağlık Bakanlığı. Akupunktur tedavi yönetmeliği. *Resmî Gazete* 17.9.2002; 24879 Erişim linki: <https://www.saglik.gov.tr/TR-10454/akupunktur-tedavisi-uygulanan-ozel-saglik-kuruluslari-ile-bu-tedavinin-uygulanmasi-hakkinda-yonetmelik.html> Erişim Tarihi: 18.08.2024
15. Geçioğlu B, Geçioğlu E. Akupunktur ve malpraktis. 1. Ulusal Sağlık Hukuku Kongresi. 2014.
16. Çayır Y, Tanrıverdi EÇ. Kadın sağlığı ve hastalıklarında akupunktur. *Dicle Tıp Derg*, 2022; 49(1): 256-63.
17. Işık M, Aksoy FN. Tıbbî sülük tedavisi (hirudoterapi) ve Hacamat. *Sağlık Düş Tıp Kült Derg*, 2012; 22: 80-4.
18. Kim T, Kang JW, Kim KH. Cupping for treating neck pain in video display terminal (VDT) users: A randomized controlled pilot trial. *J Occ Health*, 2012; 54(6):416-26.
19. Bamfarahnak H, Azizi A, Noorafshan A. A tale of Persian cupping therapy: 1001 potential applications and avenues for research. *Forsch Komplementmed*, 2014;21(1):42-7.
20. Piyush M, Vividha D. Cupping erapy: A prudent remedy for a plethora of medical ailments. *J Tradition Complement Med*, 2015;5: 127-34.
21. Tham LM, Lee HP, Lu C. Cupping: from a biomechanical perspective. *J Biomech.*, 2006;39:2183-93.
22. El Sayed SM, Mahmoud HS, Nabo MMH. Methods of wet cupping therapy (Al-Hijamah): In light of modern medicine and prophetic medicine. *Altern Integ Med*, 2013;2:3.
23. İlkay ZC. Traditional Chinese medicine cupping erapy, Churchill Livingstone, 2014;1.
24. Gürbüz P, Kolaç T, Yetiş G. Kupa tedavisi ve hacamat konularında Türkiye’de yapılan çalışmaların değerlendirilmesi Evaluation of the researches about cupping therapy and hijama in Turkey. II. Uluslararası Battalgazi Multidisipliner Çalışmalar Kongresi. 15-16-17 Mart 2019, 598.
25. Okumuş M. Kupa Tedavisi ve Hacamat. *Ankara Med J*, 2016; 16(4).
26. Ahmadi A, Schwebel DC, Rezaei M. The Efficacy of Wet-Cupping in the Treatment of Tension and Migraine Headache. *Am J Chin Med*, 2008;36(1):37-44.
27. Ambarish V, Barde P, Vyas A. Comparison between pre-prandial and post-prandial heart rate variability (HRV). *Indian J Physiol Pharmacol*, 2005;49:436-42.
28. Ayhan H, Mollahaliloğlu S. Tıbbi sülük tedavisi: Hirudoterapi. *Ankara Med J*, 2018;18(1): 141-48.
29. Küçük Ö, Yaman O. Tıbbi sülük terapisi (Hirudoterapi). *J Biotech Str Health Res*, 2019;3: 29-46.
30. Parlakpınar H, Polat S. Hirudoterapi (tıbbi sülük uygulaması) tarihçesi. *Türkiye Klinikleri Traditional and Complementary Medicine-Special Topics*, 2021;2(3): 1-6.
31. Trak G. Hirudoterapi ve Cerrahide Kullanımı. *J Biotech Str Health Res*, 2019;3:47-54.
32. Ünal K, Erol ME. Tıbbi sülük tedavisinin bilimsel değeri. *Ana Tıp Derg*, 2022;1(3): 37-45.
33. Şahin EV, Özpak AM. Sülük tedavisine bağlı kutanöz lenfoid reaksiyon. *Sür Tıp Eğt Derg*, 2019;28(5):377-9.
34. Mumcuoglu KY. Recommendations for the use of leeches in reconstructive plastic surgery. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014;205929.
35. Rutala WA, Boyce JM, Weber DJ. Disinfection, sterilization and antisepsis: An overview. *Am J Infect Control*, 2023;51(11S): A3-A12.

36. Alp E. Dezenfeksiyon-sterilizasyon ilkeleri. İçinde: Alp, E. (Ed.), Enfeksiyon Kontrol Programı. Erciyes Üniversitesi, 2012; yayın no: 55, 139-43.
37. Dezenfeksiyon, Antisepsi, Sterilizasyon (DAS) Derneği. Dezenfeksiyon antisepsi sterilizasyon rehberi, 2019, <https://www.das.org.tr/kitaplar/DASRehber2019V10.pdf>. Erişim tarihi: 20.07.2024.
38. OSHA. <https://www.osha.gov/personal-protective-equipment/standards>, 2024, Erişim tarihi: 20.07.2024.
39. Torresetti M, Peltristo B, Taddei FMJ, Di Benedetto G. Aeromonas hydrophila Infection following Leech Therapy for the Treatment of Nipple-Areola Complex Congestion after Breast Reduction: A Case Report. Arch Plast Surg, 2024;51(3): 317-20.
40. Pietrzak A, Kanitakis J, Tomasiewicz K, Wawrzycki B, Kozłowska-Loj J, Dybiec E, et al. Cutaneous complications of improper leech application. Ann Agricult Environ Med, 2021;19(4).
41. Tanrıkulu L. Mezoterapi. Türkiye Klinikleri J Med Sci, 2007; 27(2):272-5.
42. Pistor M. What is mesotherapy? Chir Dent Fr, 1976;46(288):59-60.
43. Öztürk F, Ermertcan AT. Mezoterapi: Giriş ve tarihçe. Türkiye Klinikleri Cosmetic Dermatology-Special Topics, 2014; 7(4): 1-3.
44. Topal İ. Kas iskelet sistemi hastalıklarında mezoterapi. Bidge Yayınları, 2023;132-50.
45. Nas MA, Koçak MB. Mezoterapi Uygulamaları. Türkiye Klinikleri Traditional and Complementary Medicine-Special Topics. 2022; 3(3): 61-5.
46. Atalık A. Mezoterapi ve Klinik Uygulamalar. J Biotech Str Health Res, 2019; 3:115-18.
47. Zanardi I, Borrelli E, Valacchi G. Ozone: a multifaceted molecule with Unexpected therapeutic activity. Curr Med Chem, 2016;23(4):304-14.
48. Nogales CG, Ferrari PA, Kantorovich EO. Ozone therapy in medicine and dentistry. J Contemp Dent Pract, 2008;9(4):75-84.
49. Braidy N, Izadi M, Sureda A. Therapeutic relevance of ozone therapy in degenerative diseases: Focus on diabetes and spinal pain. J Cell Physiol, 2018;233(4):2705-14.
50. Bocci V. Ozone as Janus: this controversial gas can be either toxic or medically useful. Mediators Inflamm, 2004; 13(1): 3-11.
51. Kogelschatz U. Dielectric-barrier discharges: Their history, discharge physics, and industrial applications. Plasma Chemi Plasma Process, 2003;23(1):1-46.
52. Sagai M, Bocci V. Mechanisms of action involved in ozone therapy: Is healing induced via a mild oxidative stress? Med Gas Res, 2011;1:29.
53. Babacan A. Ozon, ozonterapi ve klinik kullanımı. Türkiye Klin J Med Sci, 2008, 28(6): 245-47.
54. Erdoğan EG, Örsal Ö. Astımlı hastaların geleneksel ve tamamlayıcı tedavi kullanımları ve etkileyen değişkenlerin değerlendirilmesi: Kesitsel bir araştırma. J Tradition Med Complement Ther, 2023;6(2).
55. Yurdakul ES, Sarı O. Geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamalarının etik yönden incelenmesi. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Derg, 2020;10(3): 404-14.
56. World Health Organization (WHO). Hand Hygiene, <https://www.who.int/publications/i/item/a-guide-to-the-implementation-of-the-who-multimodal-hand-hygiene-improvement-strategy>. 2009, Erişim tarihi: 20.07.2024.
57. Öngören Ş, Botanlıoğlu H, Erdal N, Kodaloğlu K. Covid-19 pandemi döneminde akilci kişisel koruyucu ekipman (KKE) kullanımı ve yönetimi: bir üniversitesi hastanesi örneği. Sağ Perf Kalite Derg, 2023;20(2): 1-30.
58. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Clean Hands. (<https://www.cdc.gov/clean-hands/about/hand-hygiene-for-healthcare.html>). 2023, (Erişim Tarihi: 17.12.2023).
59. Özkaya HD, Suner A, Büke Ç. Hastanede yatan hastaların sağlık hizmetlerinde el hijyeni bilgilerinin değerlendirilmesi. Ege Tıp Derg, 2023;62(1): 81-94.

60. Cevahir F, Altindis M. Hasta güvenliği ve enfeksiyon kontrolü. İçinde: Altindis S. (Ed.), Kalite yönetiminde hasta güvenliği. 1.Basım, 2023;71-94. Nobel Tıp Yayınevi. Ankara.
61. Alp E. El hijyeni ve eldiven kullanımı. İçinde: Alp, E. (Ed.), Enfeksiyon Kontrol Programı. Erciyes Üniversitesi, 2012; yayın no: 55: 37-41.
62. Cevahir F. Sağlık personeli sağlığı ve bağışıklama ilkeleri. İçinde: Alp, E. (Ed.), Enfeksiyon Kontrol Programı. Erciyes Üniversitesi, 2012; yayın no: 55:183-192.
63. Alp E, Altun D, Cevahir F, McLaws ML. Evaluation of the effectiveness of an infection control program in adult intensive care units: A report from a middle-income country. *Am J Infect Cont*, 2014;42(10): 1056-61.
64. Tünay H. Üniversite hastanesinde çalışan doktor ve hemşirelerin izolasyon önlemlerine uyumlarının değerlendirilmesi. *Acta Medica Nicomedia*, 2023;6(2), 220-3.
65. Alp E. İzolasyon önlemleri. İçinde: Alp, E. (Ed.), Enfeksiyon Kontrol Programı. Erciyes Üniversitesi, 2012; yayın no: 55:43-51.
66. CDC. Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, 2008 Update: June 2024, <https://www.cdc.gov/infection-control/media/pdfs/Guideline-Disinfection-H.pdf> . 2024, Erişim tarihi: 20.07.2024.
67. Karagöz R, Erensoy H, Kandemir GK. Tıbbi ürünlerin sterilizasyonu. *Yeni Yüzyıl J Med Sci*, 2022;3(4): 199-205.
68. Alp E. Hastane temizliği-tıbbi atıkların yönetimi. İçinde: Alp, E. (Ed.), Enfeksiyon Kontrol Programı. Erciyes Üniversitesi, 2012;yayın no: 55:123-137.
69. Gyeltshen D, Dorji T, Choda S, Gyeltshen C, Dorji S, Dorji T, et al. Knowledge, attitude, and practice of infection control and waste management among traditional medicine practitioners in Bhutan, 2019: A Nationwide Cross-Sectional Survey. *Evidence-Based Complement lter Med*, 2021;(1): 6691780.
70. Öztürk YE, Dömbekci HA, Ünal S. Geleneksel tamamlayıcı ve alternatif tıp kullanımı. *Büt Ana Tıbbi Derg*, 2020;1(3): 23-35.
71. T.C. Sağlık Bakanlığı. Türkiye viral hepatit önleme ve kontrol programı 2018-2023 https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/Yayinlarimiz/Programlar/Turkiye_Viral_Hepatit_Onleme_ve_Kontrol_Programi_2018-2023.pdf.2018, Erişim Tarihi:29.07.2024
72. Altan G, Mumcuoğlu İ, Hazırolan G, Dülger D, Aksu N. Yara Örneklerinden İzole Edilen Mikroorganizmalar ve Antimikrobiyallere Duyarlılıkları. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2017;74(4): 279-86.
73. Ünal K, Erol M, Ayhan H. Literature review on the effectiveness of medicinal leech therapy in the wound healing. *Ankara Med J*, 2023;23(1).
74. Benli AC, Benli AR, Aslaner H. Islak kupa terapisinde nadir bir komplikasyon: Jeneralize konvülsiyon. *J Anatol Med Res*, 2020;5(1): 29-31.
75. Akalın B, İrban A, Özargun G. Türkiye’de geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamalarının mevcut standartları ve iyileştirme önerileri. *Sağlık Prof Araşt Derg*, 2023;5(1): 49-69.
76. Ünlü A, Kırca Ö, Duman O, Özdoğan M. Akupunktur ve kanser. *Akdeniz Tıp Derg*, 2017; 3(2): 59-64.
77. Kim TH, Kim KH, Choi JY, Lee MS. Adverse events related to cupping therapy in studies conducted in Korea: a systematic review. *Eur J Integr Medi*, 2014;6(4), 434-40.
78. Okumuş M. Kupa tedavisi ve hacamat. *Ankara Med J*, 2016;16(4).
79. Korucu KS, Oksay A. Geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamaları kapsamında fitoterapi ve homeopati. *SDÜ Sağ Yön Derg*, 2023;5(2):97-113.
80. Bethony J, Brooker S, Albonico M, Geiger SM, Loukas A, Diemert D, et al. Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. *Lancet*, 2006;367(9521): 1521-1532.
81. Eser AG. Gıda kaynaklı parazitlerin önemi; epidemiyolojisi, bulaşma yolları, risk değerlendirmesi ve kontrol önlemleri. *Gıda Yem BilTek Derg*, 2024;(31), 62-73.

82. Dar BPW, Öksüz Z, Algül Ö. Antiviral ilaçlardaki gelişmeler ve değerlendirilmesi. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi, 2019; 9(2): 160-70.
83. Dayan S. Enfeksiyon hastalıkları tanı ve tedavi el kitabı. 2022;1-10.
84. CDC 2019 Antibiotic Resistance Threats Report. 2022; https://www.cdc.gov/antimicrobial-resistance/data-research/threats/?CDC_Aaref_Val=https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html
85. WHO (World Health Organization). Antimicrobial resistance. 2024; <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
86. Yalçın A. Antiparaziter ve Antibakteriyel İlaçlar (Klorokin, Hidroksiklorokin, Nitazoksanid, İvermektin, Azitromisin). Türkiye Klinikleri COVID-19, 2(5): 1-5.
87. Korkut S, Kurt NG, Oğuztürk H, Kayıpmaz A. Endoparaziter ilaçlar ve toksisite. Hitit Med J, 2021; 3(1): 30-4.
88. Sönmez Cİ, Ayhan Başer D, Küçükdağ HN, Kayar O, Acar İ, Döner-Güner P. Tıp Fakültesi öğrencilerinin geleneksel ve tamamlayıcı tıp ile ilgili bilgi durumlarının ve davranışlarının değerlendirilmesi. Konuralp Med J. 2018;10(3):276-81.
89. Alp E, Cevahir F, Gökahmetoglu S, Demiraslan H, Doganay M. Prevaccination screening of health-care workers for immunity to measles, rubella, mumps, and varicella in a developing country: What do we save? J Infect Pub Health, 2012; 5(2): 127-32.
90. World Health Organization (WHO). WHO Traditional Medicine Strategy 2014-2023. World Health Organization. Link to the document, 2013; (Erişim tarihi: 03.09.2024)
91. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. Morbidity and Mortality Weekly Report, 51(RR16);1-44. 2002; (Erişim tarihi: 03.09.2024).
92. World Health Organization (WHO). WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care. First Global Patient Safety Challenge: Clean Care is Safer Care. 2009; (Erişim tarihi: 03.09.2024).
93. World Health Organization (WHO). WHO Environmental Cleaning and Disinfection Guidelines. 2008; (Erişim tarihi: 03.09.2024).

TELİF HAKKI DEVİR FORMU / COPYRIGHT TRANSFER FORM



HALK SAĞLIĞI GENEL MÜDÜRLÜĞÜ / GENERAL DIRECTORATE OF PUBLIC HEALTH

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

Makale Türü/Article Type:

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

(...) Araştırma/Research

(...) Derleme/Review

(...) Olgu Sunumu/Case Report

(...) Editöre Mektup/Letter to Editor

(...) Teknik Rapor/Technical Report

Makale Başlığı/Article Entitled :

Sayın Editör,

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

1. Derginizde yayımlanmak üzere yollamış olduğumuz makalenin orijinal 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 rights and copyrights,
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 gönderiniz veya elden teslim ediniz / Please send this form to the address below or deliver personally

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

Sağlık Mah. Adnan Saygun Cad. No: 55 E Blok Park Girişi 06100 Sıhhiye-ANKARA-TURKEY

Tel/Phone : +90 312 565 55 80

Faks/Fax : +90 312 565 55 91

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

