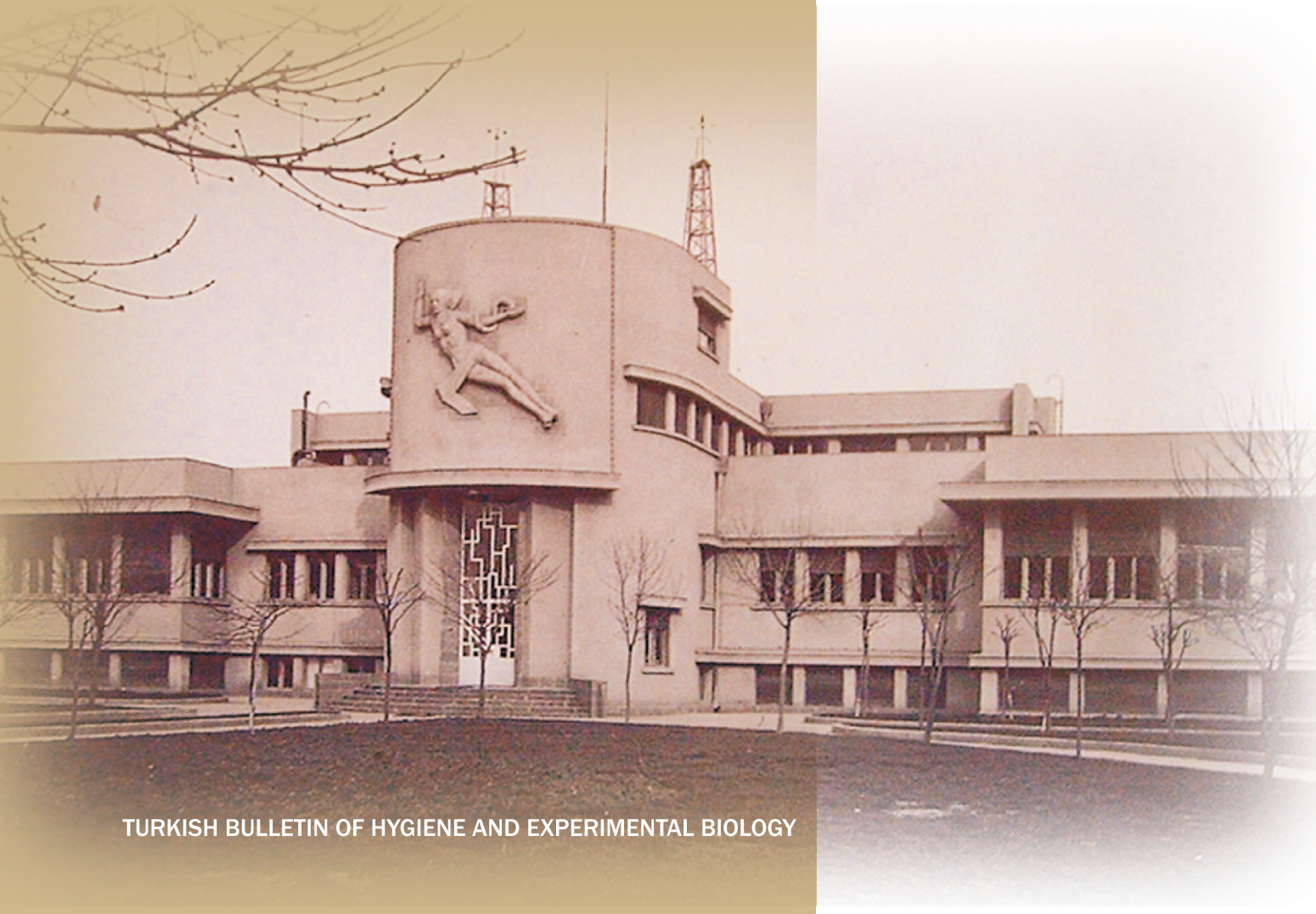




T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 73 ■ Sayı/Number 4 ■ Yıl/Year 2016





T.C. Sağlık Bakanlığı
Türkiye Halk Sağlığı
Kurumu

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

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

ISSN 0377-9777 (Basılı / Printed)

ISSN 1308-2523 (Çevrimiçi / Online)

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 73 ■ Sayı/Number 4 ■ Yıl/Year 2016

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND
EXPERIMENTAL BIOLOGY

Turk Hij Den Biyol Derg



TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Sahibi / Owner

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu adına

On behalf of Public Health Institution of Turkey

İrfan ŞENCAN, Başkan (President)

EDİTÖR / EDITOR IN CHIEF

Hasan IRMAK

EDİTÖR YARDIMCILARI / DEPUTY EDITORS

Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN

Demet CANSARAN-DUMAN

Hülya ŞİMŞEK

Pınar KAYNAR

YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Mehmet Kürşat DERİCİ

Fatih BAKIR

Mestan EMEK

Fehminaz TEMEL

Selin NAR-ÖTGÜN

Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK

Şule ŞENSES-ERGÜL

Arsun ESMER

Sibel KARACA

Gülsen TOPAKTAŞ

TEKNİK KURUL / TECHNICAL BOARD

Utku ERCÖMART

Zeynep KÖSEOĞLU

Selahattin TAŞOĞLU

TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY
ANKARA-TÜRKİYE

Yılda dört kez yayımlanır / Published four times per year

Asitsiz kağıt kullanılmıştır / Acid free paper is used

Tasarım - Dizgi / Design - Editing :

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

Baskı ve Cilt / Press and Binding :

Azim Matbaacılık
Büyük Sanayi 1. Cad. No: 99/33 İskitler-ANKARA
Tel: +90 312 342 03 71-72
e-posta: info@azimmatbaacilik.com

Yayın Türü / Type of Publication :

Yerel Süreli Yayın / Periodical Publication

Basım Tarihi / Date of Publication :

2016

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
Ahmet KART, Ankara
Akçahan GEPEĐREMEN, Bolu
Ali ALBAY, Ankara
Ali Kudret ADILOĞLU, Ankara
Ali Naci YILDIZ, Ankara
Alp ERGÖR, İzmir
Alper AKÇALI, Çanakkale
Aşkın YAŞAR, Ankara
Ateş KARA, Ankara
Aydan ÖZKÜTÜK, İzmir
Aykut ÖZKUL, Ankara
Ayşegül GÖZALAN, Ankara
Ayşegül TAYLAN ÖZKAN, Çorum
Banu ÇAKIR, Ankara
Bayram ŞAHİN, Ankara
Bekir ÇELEBİ, Ankara
Belgin ÜNAL, İzmir
Berrin ESEN, Ankara
Birce TABAN, Ankara
Bülent ALTEN, Ankara
Celal F. GÖKÇAY, Ankara

Cemal SAYDAM, Ankara
Çağatay GÜLER, Ankara
Delia Teresa SPONZA, İzmir
Demet CANSARAN DUMAN, Ankara
Dilek ASLAN, Ankara
Dilek YAĞCI ÇAĞLAYIK, İstanbul
Diler ASLAN, Denizli
Doğan YÜCEL, Ankara
Duygu ÖZEL DEMİRALP, 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
Gülnur TARHAN, Adıyaman
Hakan ABACIOĞLU, İzmir

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Haluk VAHABOĞLU, İstanbul

Hasan IRMAK, Ankara

Hasan TEZER, Ankara

Hayrettin AKDENİZ, Bolu

Hilal ÖZDAĞ, Ankara

Hülya ŞİMŞEK, Ankara

Hürrem BODUR, Ankara

Işıl MARAL, İstanbul

İ. Mehmet Ali ÖKTEM, İzmir

İpek MUMCUOĞLU, Ankara

İrfan EROL, Ankara

İrfan ŞENCAN, Ankara

İsmail CEYHAN, Ankara

Kemal Osman MEMİKOĞLU, Ankara

Koray ERGÜNAY, Ankara

Levent AKIN, Ankara

Mahinur AKKAYA, Ankara

Mehmet Ali ONUR, Ankara

Mehmet Kürşat DERİCİ, Çorum

Mestan EMEK, Antalya

Metin KORKMAZ, İzmir

Mithat ŞAHİN, Kars

Muhsin AKBABA, Adana

Murat DİZBAY, Ankara

Mustafa AKSOY, Ankara

Mustafa ERTEK, Ankara

Mustafa Kasım KARAHOCAGİL, Kırşehir

Mustafa Kemal BAŞARALI, Ankara

Mustafa KAVUTÇU, Ankara

Mükerrem KAYA, Erzurum

Nazime MERCAN, Denizli

Nazmi ÖZER, Ankara

Nilay ÇÖPLÜ, Ankara

Nur AKSAKAL, Ankara

Nur Münevver PINAR, Ankara

Nuran ESEN, İzmir

Oğuz GÜRSOY, Denizli

Orhan BAYLAN, İstanbul

Orhan YILMAZ, Ankara

Özlem KURT AZAP, Ankara

Pınar KAYNAR, Ankara

Pınar OKYAY, Aydın

Rahmet GÜNER, Ankara

Recep AKDUR, Ankara

Recep KEŞLİ, Afyonkarahisar

Recep ÖZTÜRK, İstanbul

Rıza DURMAZ, Ankara

S. Aykut AYTAÇ, Ankara

Saime ŞAHİNÖZ, Gümüşhane

Sami AYDOĞAN, Kayseri

Sarp ÜNER, Ankara

Seçil ÖZKAN, Ankara

Seda KARASU YALÇIN, Bolu

Seda TEZCAN, Mersin

Selçuk KAYA, Trabzon

Selçuk KILIÇ, Ankara

Selim KILIÇ, Ankara

Selin NAR ÖTGÜN, Ankara

Sema BURGAZ, Ankara

Semra Ayşe GÜREŞER, Çorum

Sercan ULUSOY, İzmir

Sultan ESER, İzmir

Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Manisa

Sümer ARAS, Ankara

Şule SENSES ERGÜL, Ankara

Tevfik PINAR, Kırıkkale

Turan BUZGAN, Ankara

Yeşim ÖZBAŞ, Ankara

Yunus Emre BEYHAN, Van

Zafer ECEVİT, Ankara

Zafer KARAER, Ankara

Zati VATANSEVER, Kars

Zeynep GÜLAY, İzmir

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

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

Ahmet GÖDEKMERDAN, Elazığ

Akın YILMAZ, Çorum

Ali ERGÜL, Ankara

Aliye MANDIRACIOĞLU, İzmir

Aynur KARADENİZLİ, Kocaeli

Ayşe Esin AKTAŞ, Ankara

Canan BAYAR, Ankara

Çağatay ÇAĞLAR, Çorum

Doruk ENGİN, Ankara

Gülşay ARAL AKARSU, Ankara

Hakan ERDEM, Ankara

Hüseyin KAYADİBİ, Çorum

İbrahim ÇAKIR, Bolu

İlker BÜYÜK, Ankara

Kerim KÜÇÜKLER, Çorum

Meral TURAN, Ankara

Osman AYKUT, Ankara

Özlem GENÇ, Kütahya

Sedat ABUŞOĞLU, Konya

Serap SÜZÜK, Ankara

Serpil ERDOĞAN, Ankara

Sinan BULUT, Ankara

Süleyman YAZAR, Kayseri

Ümit GÖRKEM, Çorum

Yavuz UYAR, İstanbul

Yüce AYHAN, İzmir

TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ YAZIM KURALLARI

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

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

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

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

a. Yazının başlığı kısa olmalı ve küçük harfle yazılmalıdır.

b. Sayfa başlarına konan kısa başlık 40 karakteri geçmemelidir.

c. Çalışma bilimsel bir kuruluş ve/veya fon ile desteklenmişse dipnot veya teşekkür bölümünde mutlaka belirtilmelidir.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

11. Araştırma yazıları;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

16. Bu kurallara uygun olmayan metinler kabul edilmez.

17. Yazarlar teslim ettikleri yazının bir kopyasını saklamalıdır.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu

Tel : (0312) 565 55 79

Faks : (0312) 565 55 91

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

WRITING RULES OF TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Articles should be prepared according to the rules of the Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology. Submissions can be made online at the address www.turkhiyjen.org through the Online "Manuscript Submission, Tracking, Evaluation Program".

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

11. Research Articles;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

12. Research articles should have up to 40 references.

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

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

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

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

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

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

Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

Public Health Institution of Turkey

Tel : +90 312 565 55 79

Fax : +90 312 565 55 91

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

TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

YAYIN İLKELERİ

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

YAZAR(LAR) İÇİN MAKALE KONTROL LİSTESİ

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

EDITORIAL POLICY

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

CHECKLIST OF THE ARTICLE FOR AUTHOR(S)

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

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

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



DOAJ
DIRECTORY OF
OPEN ACCESS
JOURNALS



INDEX
INTERNATIONAL
COPERNICUS

CAS
A division of the American Chemical Society

Google
scholar
beta

SCIRUS
for scientific information only

Academic Journals Database
disseminating
quality controlled scientific knowledge

BASE
Bielefeld Academic Search Engine

New Jour
• Electronic Journals & Newsletters •

EBSCO
HOST
Electronic
Journals
Service

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

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



TURK
MEDLINE



TÜRKİYE ATIF DİZİNİ

ULRICHSWEB™
GLOBAL SERIALS DIRECTORY

Wolters Kluwer
Health | Ovid LinkSolver™

GENAMICS™
...research from your desktop

libsearch

Scopus

medoanet
Mediterranean Open Access Network

crossref

İLETİŞİM

CORRESPONDENCE

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

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

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

Tel: 0312 565 55 79

Faks: 0312 565 55 91

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

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

www.turkhijyen.org

■ Araştırma Makalesi / Original Article

1. Kurşun maruziyetinin taranmasında saç ve idrar numunelerinin kullanılabilirliğinin araştırılması
Investigation of the hair and urine samples' utility for screening lead poisoning
Ceylan BAL, Murat BÜYÜKŞEKERCİ, Müjgan ERCAN, Oya TORUN-GÜNGÖR, Engin TUTKUN, Fatma Meriç YILMAZ
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.88896 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 303 - 310 
2. Zararlılarla mücadele adı altında semt pazarlarında satılan ürünlerin aktif içeriğinin incelenmesi
Investigation of the active composition of products traded in local street bazaars for pest control
Emine CAN-GÜVEN, Ahmet ÇİL, Banu OĞUZ, Deniz TEZCAN, Kadir GEDİK, Perihan Binnur KURT-KARAKUŞ
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.55823 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 311 - 322 
3. Kırmızı biberde aflatoksin oluşturmeyen *Aspergillus flavus* izolatlarının belirlenmesi
Determination of *Aspergillus flavus* isolates that do not produce aflatoxin in red pepper
Bekir Bülent ARPACI, Ayhan AK, Kerim KARATAŞ, Mehmet KOÇ, Peter J. COTTY
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.36034 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 323 - 332 
4. Antibiotic resistance rates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from a university-affiliated hospital in North Cyprus
Kuzey Kıbrıs'taki bir üniversite hastanesinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae* bakterilerinin antibiyotik direnç oranları
Emrah RUH, Umut GAZİ, Meryem GÜVENİR, Kaya SÜER, Nedim ÇAKIR
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.82653 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 333 - 344 
5. Molecular typing and investigation of carbapenemases in carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolates
Karbapenemlere dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında moleküler tiplendirme ve karbapenemazların araştırılması
Nilgün ÖZBEY, Müşerref TATMAN-OTKUN
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.91489 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 345 - 354 
6. Yoğun bakım hastalarında hastane kaynaklı pnömoni olgularının değerlendirilmesi ve sık görülen bakteriyel etkenlerin antimikrobiallere dirençlerinin araştırılması
Evaluation of nosocomial pneumonia in intensive care unit patients and investigation of antimicrobial resistance of frequently encountered bacterial isolates
Yasemin GENÇ, Yakup GÜRKAN, İpek MUMCUOĞLU, Dilek KANYILMAZ, Altan AKSOY, Neriman AKSU
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.84755 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 355 - 364 
7. Kocaeli il merkezinde bulunan hastanelerde çalışan hemşirelerin zoonotik hastalıklar hakkındaki bilgi düzeylerinin belirlenmesi
The determination of knowledge level of nurses working in the hospitals in the center of Kocaeli province about the zoonotic diseases
Rüştü TAŞTAN, Levent ALTINTAŞ, Sibel CEVİZCİ
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.62134 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 365 - 378 
8. Comparison of conventional and rapid methods for determination of total aerobic mesophilic microorganisms and Enterobacteriaceae in poultry products
Kanatlı eti ürünlerinde toplam aerobik mezofilik mikroorganizma ve Enterobacteriaceae belirlenmesinde klasik ve hızlı yöntemlerin karşılaştırması
Çetin ERTUĞRUL, İbrahim ÇAKIR
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.98470 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 379 - 388 
- Olgu Sunumu / Case Report
9. Vorikonazol ile tedavi edilen bir *Aspergillus flavus* kompleks keratit olgusu
A case of *Aspergillus flavus* complex keratitis treated with voriconazole
Gülşen HAZIROLAN, Özlem Evren KEMER, Dilay ÖZEK, Altan AKSOY, Neriman AKSU
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.81905 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 389 - 394 
- Teknik Rapor / Technical Report
10. Alignment of new bathing water EU directive and its applications to protect public health
Halk sağlığının korunması için yeni yüzme suyu AB direktifinin uyumlaştırılması ve uygulamaları
Dilek DİKMEN, Hasan IRMAK
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.97059 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 395 - 404 
- Derleme / Review
11. Farklı biyolojik organizmalarda proteomik uygulamalar
Proteomic applications of different biological organisms
Sinem ÖZENOĞLU, Hatice YILDIZHAN, Duygu ÖZEL-DEMİRALP, Demet CANSARAN-DUMAN
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.35761 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 405 - 418 

Kurşun maruziyetinin taranmasında saç ve idrar numunelerinin kullanılabilirliğinin araştırılması

Investigation of the hair and urine samples' utility for screening lead poisoning

Ceylan BAL¹, Murat BÜYÜKŞEKERCİ², Müjgan ERCAN³, Oya TORUN-GÜNGÖR⁴, Engin TUTKUN⁵, Fatma Meriç YILMAZ¹

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, eş zamanlı olarak bakılan tam kan, 24 saatlik idrar ve saç kurşun düzeylerinin birbiri ile karşılaştırılması ve kurşun maruziyetinin taranmasında saç ve idrar numunelerinin kullanılabilirliğinin araştırılmasıdır.

Yöntemler: Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesi'ne 2010-2014 yılları arasında periyodik muayene amacıyla başvuran 436 işçiye ait veriler değerlendirildi. Tam kan, 24 saatlik idrar ve saç kurşun düzeyleri eş zamanlı olarak bakılmış kişiler çalışmaya dâhil edildi. Kişiler iki farklı tam kan maruziyet düzeyine (10 µg/dL ve 30 µg/dL) göre değerlendirildi.

Bulgular: Tam kan maruziyet sınırlarına göre sınıflandırılan grupların 24 saatlik idrar ve saç kurşun düzeyi birbirinden farklı ve istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0,001$). Tam kan kurşun düzeyi 24 saatlik idrar kurşun düzeyi ve saç kurşun düzeyi ile pozitif bir korelasyon gösteriyordu (sırasıyla; $r=0,552$; $p<0,001$, $r=0,566$; $p<0,001$). 10 µg/dL sınır değerine göre saç %95 duyarlılık, %64 özgüllük, %16 yalancı pozitiflik, %13 yalancı negatiflik gösterirken 24 saatlik idrar örnekleri %53 duyarlılık, %100 özgüllük, %0 yalancı pozitiflik ve %49 yalancı negatiflik gösteriyordu. 30 µg/dL sınır

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to compare whole blood, 24 hour urine and hair lead levels which were measured concurrently, and evaluate the utility of hair and urine samples for screening of lead exposure.

Methods: The data of 436 workers who referred to Ankara Occupational Diseases Hospital between 2010 and 2014 for periodic examination were evaluated. People who examined whole blood, 24 hour urine and hair lead levels concurrently were included in this study. People were evaluated according to two different whole blood exposure levels (10 µg/dL and 30 µg/dL).

Results: 24 hour urine and hair lead levels of the groups classified according to whole blood exposure limits were different from each other and statistically significant ($p<0,001$). Whole blood lead level showed a positive correlation with 24h urine lead level and hair lead level ($r=0,552$; $p<0,001$, $r=0,566$; $p<0,001$, respectively). 24 hour urine specimens showed 53% sensitivity, 100% specificity, 0% false positivity and 49% false negativity, while the hair displayed 95% sensitivity, 64% specificity, 16% false positivity and 13% false negativity according to the 10 µg/dL limit value. Moreover,

¹ Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, Ankara

² Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesi, Farmakoloji Bölümü, Ankara

³ Aydın Halk Sağlığı Laboratuvarı, Biyokimya Bölümü, Ankara

⁴ Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Bölümü, İstanbul

⁵ Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesi, Toksikoloji Bölümü, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Ceylan BAL

Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Bilkent Yerleşkesi, Çankaya, Ankara 06280 Ankara - Türkiye
Tel : +90 505 745 84 38 E-posta / E-mail : ceylandemirbal@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 02.03.2016
Kabul Tarihi / Accepted : 27.06.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.88896

Bal c, Büyülşekerci M, Ercan M, Torun-Güngör O, Tutkun E, Yılmaz FM. Kurşun maruziyetinin taranmasında saç ve idrar numunelerinin kullanılabilirliğinin araştırılması. Türk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(4): 303-310

değerine göre saç %100 duyarlılığa, %36 özgüllüğe, %58 yalancı pozitifliğe, %0 yalancı negatifliğe sahip iken 24 saatlik idrar numunesi %86 duyarlılık, %89 özgüllük, %22 yalancı pozitiflik ve %7 yalancı negatifliğe sahipti.

Sonuç: Saç, yüksek ve düşük düzey kurşun maruziyetini belirlemede uygun bir numune olmasına rağmen 24 saatlik idrar, yüksek düzey maruziyetleri belirlemek için daha uygun numunedir. Bu iki cins numune ile farklı maruziyet seviyeleri araştırılırken yalancı negatiflik açısından dikkatli olunmalıdır.

Anahtar Kelimeler: kurşun, tam kan, idrar, saç.

according to the 30 µg/dL limit value, while hair had 100% sensitivity, 36% specificity, 58% false positivity and 0% false negativity, 24 hour urine sample had 86% sensitivity, 89% specificity, 22% false positivity and 7% false negativity.

Conclusion: Although hair is a suitable sample for determining high and low level of lead exposure, 24h urine is a suitable sample for determining high level exposure. When evaluating different exposure levels with these both samples, it must be considered with regard to false negativity.

Key Words: lead, whole blood, urine, hair.

GİRİŞ

Kurşun sanayide oldukça yaygın kullanılan kimyasal ve fiziksel özellikleri iyi bilinen ağır bir metaldir. Akü üretimi başta olmak üzere, pigment ve kimyasal maddelerde, kablo izolasyonu, seramik yapımı, plastik üretimi gibi çok çeşitli sektörlerde kullanılmaktadır. Mesleki maruziyetin yanı sıra çeşitli endüstriyel faaliyetler sonucu kontamine olan toprak, su ve hava ile maruziyet de meydana gelebilir (1-3).

Kurşun toksisitesi hücre içi, hücreler arası ve moleküler mekanizmalara dayanmaktadır. Kurşun Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} ve Na^{+} gibi katyonların yerini alabilen bir metal olup, hücre içi ve hücreler arası sinyal iletimi, hücre adezyonu, protein sentezi, apoptozis, iyon transportu, enzim regülasyonu ve nörotransmitter salınımı gibi bir çok biyolojik süreci etkiler. Ayrıca reaktif oksijen türlerinin oluşmasına neden olur. Tüm bu etkilerin sonucunda başta sinir sistemi olmak üzere, kardiyovasküler sistem, üreme sistemi, hematopoetik sistem ve böbrekler üzerine olumsuz etkiye neden olur. Kurşun maruziyeti sonucu, doza ve maruziyet süresine bağlı olarak abdominal ağrı ve kramp, konstipasyon, anemi, davranış bozuklukları, böbrek hasarı, özellikle çocuklarda okul başarısında düşme ve IQ'da azalma meydana gelir. Bu semptomlar diğer hastalıkların semptomları ile karışabilir (4-10).

Kurşun vücuda temel olarak sindirim ve inhalasyon yoluyla girer. Vücuda giren kurşun karaciğer, böbrek ve akciğer gibi yumuşak dokulara kan yoluyla taşınır ve başka bir forma dönüştürülmez. Organlara yayılan kurşunun büyük bir kısmı kemiklerde depo edilmeden önce böbrek yoluyla, az bir kısmı da ter, saç, tırnak ve safra yoluyla vücuttan atılır. Yetişkinlerde vücuda alınan kurşunun %99'u birkaç hafta içinde vücuttan atılır. Kurşunun yarı ömrü kan için yaklaşık bir ay, yumuşak dokular için 1-1,5 ay, kemik için ise 25-30 yıldır (3,11,12).

Kurşunun neden olduğu sağlık sorunları, gerek çevresel gerekse mesleki maruziyetin oldukça yaygın olması nedeniyle maruziyetin tespit edilmesi çok önemlidir. Bu amaçla tam kan en sık kullanılan numunedir fakat tam kana alternatif olarak saç, tırnak ve idrar gibi diğer numunelerin kullanılabilirliği de araştırılmaktadır (13).

Bu çalışmanın amacı Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesine kurşun maruziyeti şüphesi ile başvuran kişilerde eş zamanlı olarak bakılan tam kan, 24 saatlik idrar ve saç kurşun düzeylerinin birbiri ile karşılaştırılması, kurşun maruziyetinin taranmasında saç ve idrar numunelerinin kullanılabilirliğinin araştırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma grubu

Bu çalışma Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesi'ne 2010-2014 yılları arasında periyodik muayene amaçlı başvuran 438 işçiye ait verinin değerlendirilmesi ile yapıldı. Henüz tedavi almamış kan, 24 saatlik idrar ve saç numunesinde eş zamanlı kurşun düzeyi bakılmış kişiler çalışmaya dahil edildi. Saç için 4 µg/g, 24 saatlik idrar için 31 µg/gün maruziyet sınırı kabul edildi (14,15). Gruplar içindeki yalancı negatiflik ve pozitiflik bu referans aralıkları baz alınarak hesaplandı. Tam kan için iki adet maruziyet sınırı belirlendi: Çevresel maruziyet sınırı 10 µg/dL, mesleki maruziyet yaşayanlar için 30 µg/dL (14,16). Çalışma için Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesinden etik kurul onayı alındı.

Çalışma grubu

Kurşun konsantrasyonları Ankara Meslek Hastalıkları Hastanesi Toksikoloji laboratuvarında Agilent ICP-MS (Agilent, Tokyo, Japonya) cihazı ile belirlendi. Tam kan kurşun numuneleri EDTA içeren trace element tüpüne (BD Vacutainer) alındı. Saç, enseden itibaren 1 cm olacak şekilde 0,1g alındı. Saç yıkama işleminin ardından bir gün kuruyana kadar etüvde bekletildi. Daha sonra her iki numune (tam kan ve saç) için de %65'lik nitrik asit (Merck, Darmstadt, Germany) kullanılarak klasik yaş yakma işlemi uygulandı. Yakma işlemi Cem marka Mikrodalga fırın (Matthews, NC, USA) ile gerçekleştirildi. Yakma işleminden sonra her iki numuneye de 10mL deiyonize su ilave edildi. 24 saatlik idrar numuneleri %65'lik nitrik asit kullanılarak dilüe edildi. Kalibrasyon için dilüe edilmiş sertifikalı standart solusyon (High Purity Standards, Charleston, SC, USA) kullanıldı. Yöntemin tekrarlanabilirliği iki seviye kalite kontrol solusyonu (Seronorm, Billingstad, Norway) ile kontrol edildi.

İstatistiksel Analizler

Çalışma sonuçları istatistiksel olarak "The Statistical Package for Social Science for Windows (SPSS v18)" programı ile değerlendirildi. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uyup uymadığı

Kolmogorov-smirnov testi ile incelendi. Normal dağılım gösteren değişkenler için tanımlayıcı analizler ortalama ve standart sapma, normal dağılım göstermeyenler içinse median ve minimum-maksimum değerler verildi. Gruplar arası karşılaştırmalar yapılırken normal dağılım gösteren veriler için Student t testi kullanılırken, göstermeyenler için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Parametreler arasında korelasyon bulunup bulunmadığı Spearman's rho testi ile araştırıldı. $p < 0.05$ tüm testler için istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Yöntemlerin tanısal yeterliliğini değerlendirmede sensitivite, spesifite, negatif prediktif değer (NPD), pozitif prediktif değer (PPD), yalancı negatiflik, yalancı pozitiflik ve Receiver Operating Characteristic (ROC) eğrisi altında kalan alan kullanıldı.

BULGULAR

Çiki farklı maruziyet sınırına göre değerlendirilen bireylerin yaş ortalamaları, 24 saatlik idrar ve saç kurşun düzeyleri tablo 1'de verilmiştir. Buna göre bireylerin 24 saatlik idrar ve saç kurşun düzeyi birbirinden farklı ve istatistiksel olarak anlamlı idi. Tam kan kurşun düzeyi 24 saatlik idrar kurşun düzeyi ve saç kurşun düzeyi ile pozitif bir korelasyon gösteriyordu (sırasıyla; $r=0,552$; $p < 0,001$, $r=0,566$; $p < 0,001$).

10 µg/dL sınır değerine göre saç %95 duyarlılık, %64 özgüllük, %16 yalancı pozitiflik, %13 yalancı negatiflik gösterirken, 24 saatlik idrar örnekleri %53 duyarlılık, %100 özgüllük, %0 yalancı pozitiflik ve %49 yalancı negatiflik gösteriyordu. 30 µg/dL sınır değerine göre saç %100 duyarlılık, %36 özgüllük, %58 yalancı pozitiflik, %0 yalancı negatifliğe sahipken, 24 saatlik idrar numunesi %86 duyarlılık, %89 özgüllük, %22 yalancı pozitiflik ve %7 yalancı negatifliğe sahipti (tablo 2 ve tablo 3).

ROC analizi sonucunda kan kurşunu 10 µg/dL için saç ve idrar metodu için AUC (area under curve) değerleri sırası ile 0,90 ve 0,95 iken, kan kurşunu 30 µg/dL için saç ve idrar AUC değerleri sırasıyla 0,79 ve 0,93 idi (Şekil 1 ve 2).

Tablo 1. Tam kan kurşun düzeylerine (10 µg/dL ve 30 µg/dL) göre grupların karşılaştırılması

Parametreler	Tam kanda kurşun <10µg/dL (n=143)	Tam kanda kurşun >10µg/dL (n=293)	p değeri	Tam kanda kurşun <30µg/dL (n=295)	Tam kanda kurşun >30µg/dL (n=141)	p değeri
Tam kanda kurşun (µg/dL)	2,70 (0,01-9,90)	29,30 (10,00-119,00)	<0,001	10,60 (0,01-29,60)	44,20 (30,00-119,00)	<0,001
24 saatlik idrarda kurşun (µg/gün)	1,40 (0,01-26,00)	33,20 (0,01-3650,00)	<0,001	6,00 (0,01-579,00)	102,00 (4,80-3650,00)	<0,001
Saçta kurşun (µg/g saç)	1,80 (0,01-100,00)	100,00 (0,06-426,40)	<0,001	25,50 (0,01-130,00)	100,00 (0,06-426,00)	<0,001
Yaş (yıl)	36,00±9,70	35,60±9,50	0,688	35,90±9,60	35,30±9,50	0,553

Tablo 2. Kan kurşun maruziyet sınır değerlerine göre saç metodu için tanısal yeterlilik değerleri

Kan Kurşun Maruziyet Düzeyi (Sınır 10 µg/dL)				
		>10	<10	Toplam
Saçta kurşunu	>4µgr/gr	279	52	331
	<4µgr/gr	14	93	107
Toplam		293	145	438

Duyarlılık:279/293=%95 Pozitif Prediktif değer:279/331=%84 Yalancı pozitiflik= %16
Özgüllük:93/145=%64 Negatif Prediktif değer :93/107= %87 Yalancı negatiflik= %13

Kan Kurşun Maruziyet Düzeyi (Sınır 30 µgr /dL)				
		>30	<30	Toplam
Saçta kurşunu	>4µgr/gr	141	190	331
	<4µgr/gr	0	107	107
Toplam		141	297	438

Duyarlılık:141/141=%100 Pozitif Prediktif değer: 141/331=%42 Yalancı Pozitiflik= %58
Özgüllük:107/297=%36 Negatif Prediktif değer : 107/107= %100 Yalancı Negatiflik= %0

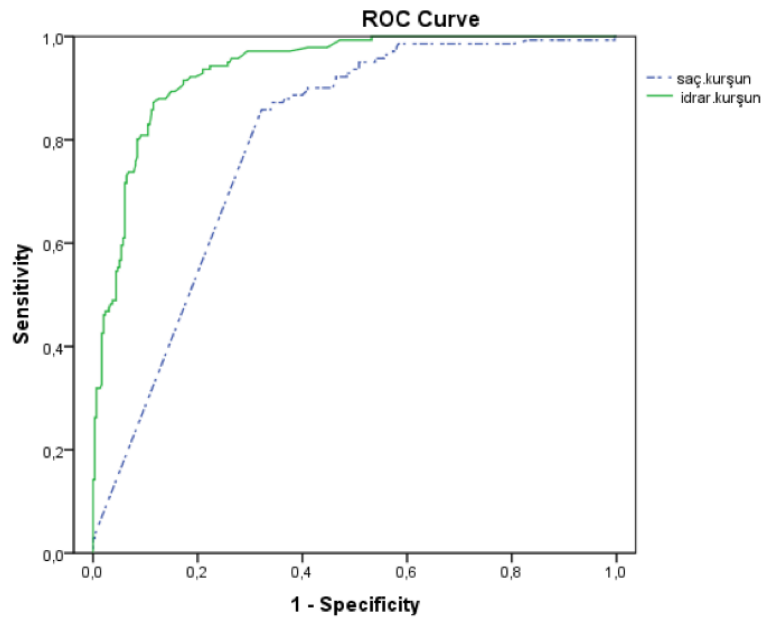
Tablo 3. Kan kurşun maruziyet sınır değerlerine göre 24 saatlik idrar metodu için tanısal yeterlilik değerleri

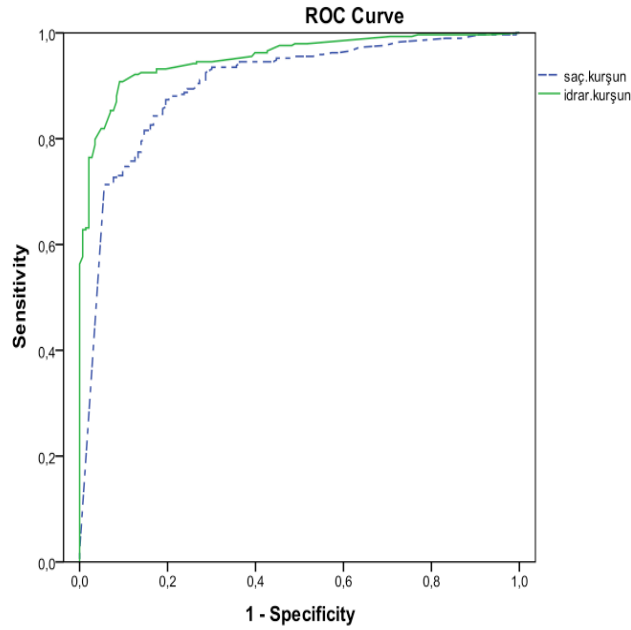
		Kan Kurşun Maruziyet Düzeyi (Sınır 10 ugr/dL)		
		>10	<10	Toplam
İdrarda kurşun	>31µgr/gün	155	0	155
	<31µgr/gün	138	145	283
toplam		293	145	438

Duyarlılık:155/293=%53 Pozitif Prediktif Değer: 155/155=%100 Yalancı Pozitiflik=%0
 Özgüllük:145/145=%100 Negatif Prediktif Değer : 145/283= %51 Yalancı Negatiflik= %49

		Kan Kurşun Maruziyet Düzeyi (Sınır 30 ugr /dL)		
		>30	<30	Toplam
İdrarda kurşun	>31µgr/gün	121	34	155
	<31µgr/gün	20	263	283
Toplam		141	297	438

Duyarlılık:121/141=%86 Pozitif Prediktif değer: 121/155=%78 Yalancı Pozitiflik= %22
 Özgüllük:263/297=%89 Negatif Prediktif değer : 263/283= %93 Yalancı Negatiflik= %7

**Şekil 1.** Saç ve 24 saatlik idrar için ROC eğrisi (Kan kurşunu 30 µg/dL için)



Şekil 2. Saç ve 24 saatlik idrar için ROC eğrisi (Kan kurşunu 10 µg/dL için)

TARTIŞMA

Kurşun en fazla bilinen ve kullanılan metal olması nedeniyle çevreye dağılımı da en çok olan metaldir. Bu nedenle mesleki maruziyetin yanı sıra çevresel maruziyette de oldukça önemlidir. Kurşun maruziyeti toplumun her kesiminden her yaş grubu için önemli bir sorundur. Amerikada doğurma yaşındaki kadınların %0,5'nin kurşun maruziyeti olduğu rapor edilmektedir. Çocuklarda özellikle çevresel düşük doz kronik maruziyetin neden olduğu sağlık sorunları nedeniyle Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 1991'de 6 ay ve 2 yaş arası tüm çocuklar için kurşun tarama programı önermiş, daha sonra bu önerisini riskli bölgelerdeki çocuklar olarak değiştirmiştir. Maruziyetin belirlenmesi için kişinin yaşına, maruziyet çeşidine göre (mesleki yada çevresel) farklı referans aralık yada sınır değerler kullanılabilir. Kurşun maruziyetinin tespitinde önerilen tam kan kurşun düzeyinin ölçülmesidir. Fakat tam kana alternatif olarak saç, idrar ve tırnak gibi invaziv olmayan, taşınması veya çalıtılması daha

kolay numuneler araştırılmaktadır (13,15-17).

Kandaki kurşunun %99'u eritrositlerde, %1'i plazmada yer alır. Kurşunun kandaki yarı ömrü yaklaşık olarak 28 gündür. Tam kan uzun dönem biyomonitörizasyon, tarama ve teşhis amacı ile kullanılan primer numune olarak kabul edilmektedir. Her ne kadar tam kan kurşun ölçümü, son dönem maruziyet hakkında bilgi verse de kemikten kana mobilizasyon nedeni ile geçmiş maruziyetler hakkında da bilgi verebilir (18).

İdrar kurşun düzeyi mesleki kurşun maruziyetinin uzun dönem biyomonitörizasyonunda tercih edilen non-invaziv bir yöntemdir. Fakat spot idrar numunesinin geniş biyolojik varyasyon göstermesi ve kreatinine göre düzeltme yapılması gerektiği için 24 saatlik idrar toplanması gerekmektedir. Bazı araştırmacılar idrar kurşun miktarının plazma kurşun düzeyini yansıttığını dolayısıyla plazma kurşun düzeyi ile idrar kurşun düzeyi korelasyonunun tam kan kurşun ile idrar kurşun korelasyonuna göre daha anlamlı olduğunu savunmaktadır (19,20).

Saç oldukça kolay toplanan, laboratuvara transferinde ve depolanmasında sorun yaşanmayan bir numunedir. Bu özellikleri nedeniyle saç, metal maruziyetinin tespitinde özellikle gelişmekte olan ülkelerde sınırlı laboratuvar koşulları nedeniyle ilgi çekici bir numunedir. Buna rağmen örneğin elde edilmesi, eksternal kontaminasyon, referans aralıklarının ya da maruziyet sınırlarının belirlenmesi gibi preanalitik sorunlar nedeniyle saç numunesi, kurşun maruziyetinin tespit ve takibinde tam kan numunesi kadar kabul gören bir numune değildir. Saçın uzama oranı kişiden kişiye değişse de ortalama her ay 1,1(0,6-1,5) cm uzadığı kabul edilir. Bu durumda saç derisinden itibaren 1 cm'lik bir saç son bir ayın maruziyetini gösterir. Bu nedenle saç son dönemdeki maruziyeti (birkaç saat veya birkaç gün) göstermekte iyi bir markır olmadığı gibi son bir yıldan önceki maruziyeti göstermek için de iyi bir markır değildir (21-23).

Foo ve arkadaşları mesleki kurşun maruziyeti yaşayan kişilerde saç ve kan kurşun düzeyi arasında anlamlı bir korelasyon bulmuştur ($r=0,85$; $p<0,0001$) (24). Gil ve arkadaşları da kan kurşun düzeyi ile aksiller kıl ve idrar kurşun düzeyi arasında pozitif bir korelasyon bulmuşlardır (sırasıyla; $r=0,256$ $p<0,01$; $r=0,343$, $p<0,01$) (25). Sanna ve arkadaşları ise 163 çocukla yaptıkları bir çalışmada kan kurşun düzeyi >5 $\mu\text{g}/\text{dL}$ olan çocukların saç ve kan kurşun düzeyini anlamlı olarak birbirleri ile korele bulmuşlar fakat kan ve idrar kurşun düzeyleri arasında bir korelasyon bulamamışlardır (26). Bizim çalışmamızda ise kan ile saç ve idrar düzeyleri arasında anlamlı pozitif bir korelasyon vardı (sırasıyla; $r=0,552$; $p<0,001$, $r=0,566$; $p<0,001$).

Esteban ve arkadaşları 189 çocukta kurşun maruziyetini taramak için saç ve tam kan numunelerini kullandıkları bir çalışmada saç numunesinin %57 duyarlılığa sahip olduğunu ve çocukların %18'inde yalancı negatif sonuç verdiğini ifade etmişlerdir (27). Sanna E. ve arkadaşları ise orta ve yüksek düzey kurşun maruziyetinde saçın tarama amaçlı kullanılabileceğini belirtmişlerdir (26).

Bizim çalışmamızda ise tam kan kurşun maruziyet değeri 10 $\mu\text{g}/\text{dL}$ için saç numunesinin %95 duyarlılık ve %64 özgüllüğe sahip olduğunu ve %16 yalancı pozitiflik, %13 yalancı negatiflik gösterdiğini gördük. AUC değerini ise 0,90 bulduk. 30 $\mu\text{g}/\text{dL}$ için saç numunesinin %100 sensitivite ve %36 spesifiteye sahip olduğunu ve %58 yalancı pozitiflik, %0 yalancı negatiflik gösterdiğini gördük. ROC eğrisi analizinde AUC değerini 0,79 bulduk. 24 saatlik idrar numunesinin 10 $\mu\text{g}/\text{dL}$ değerine göre %53 sensitivite ve %100 spesifiteye sahip olduğunu, %0 yalancı pozitif %49 yalancı negatif sonuç verdiğini gördük. AUC değeri ise 0,95 bulduk. 30 $\mu\text{g}/\text{dL}$ için 24 saatlik idrar numunesinin %86 sensitivite ve %89 spesifiteye sahip olduğunu, %22 yalancı pozitif ve %7 yalancı negatif sonuç verdiğini gördük. ROC eğrisi analizinde AUC değerini 0,93 bulduk.

Sonuç olarak; ülkemizde kurşun maruziyetine oldukça sık yaşanması ve toksikoloji laboratuvarlarının kısıtlı olması nedeniyle saçın düşük ve yüksek düzey maruziyetleri belirlemede tam kana alternatif taşınması ve saklanması kolay bir numune olduğunu, 24 saatlik idrar numunesinin ise yüksek düzey maruziyetleri belirlemede iyi bir numune olduğunu düşünüyoruz. Buna rağmen her iki numunede de maruziyetleri değerlendirirken yanlış negatiflik açısından dikkatli olunmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Xu J, Lian LJ, Wu C, Wang XF, Fu WY, Xu LH. Lead induces oxidative stress, DNA damage and alteration of p53, Bax and Bcl-2 expressions in mice. *Food Chem Toxicol*, 2008;46(1):1488-94.
2. Malekiran AA, Oryan S, Fani A, Babapor V, Hashemi M, Baeri M, et al. Study on clinical and biochemical toxicity biomarkers in a zinc-lead mine workers. *Toxicol Ind Health*, 2010;26(6):331-7.
3. Agency for Toxic Substance and Disease Registry (ATSDR). Toxicological profile for lead-update. Atlanta: U.S. Department of Health & Human Services, Public Health Service, 2007.
4. Bressler J, Kim KA, Chakraborti T, Goldstein G. Molecular mechanisms of lead neurotoxicity. *Neurochem Res*, 1999;24(4):595-600.
5. Bradbury MW, Deane R. Permeability of the blood brain barrier to lead. *Neurotoxicology*, 1993;14(2-3):131-6.
6. Bressler JP, Goldstein GW. Mechanisms of lead neurotoxicity. *Biochem Pharmacol*, 1991;41(4):479-84.
7. Patrick Lyn. Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. *Alternative Med Rev*, 2006;11(2):114.
8. Wedeen RP, Mallik DK, Batuman V. Detection and treatment of occupational lead nephropathy. *Arch Intern Med*, 1979;139(1):53-57.
9. Lidsky TI, Schneider JS. Lead neurotoxicity in children: basic mechanisms and clinical correlates. *Brain*, 2003;126(1): 5-19.
10. Garza A, Vega R, Soto E. Cellular mechanisms of lead neurotoxicity. *Med Sci Monit*, 2006;12(3): RA57-65.
11. R.R. Lauwerys and P. Hoet. Biological monitoring of exposure to inorganic and organometallic substances. In: R.R. Lauwerys, P. Hoet, eds. *Industrial Chemical Exposure: Guidelines for Biological Monitoring*. Florida. Lewis Publishers, 2001:21-280.
12. Fischbein A. Occupational and environmental exposure to lead. In: W.M.Rom, ed. *Environmental and Occupational Medicine*. Philadelphia. Lippincott-Raven Publisher, 1998;973-996.
13. Barbosa F Jr1, Tanus-Santos JE, Gerlach RF, Parsons PJ. A critical review of biomarkers used for monitoring human exposure to lead: advantages, limitations, and future needs. *Environ health perspect*, 2005;113(12):1669-74.
14. <http://www.mayomedicallaboratories.com/testcatalog/Clinical+and+Interpretive/8495> (erişim tarihi: 07.01.2017)
15. Hopfer M.S. General clinical tests, heavy metals. In: Alan H. B. Wu, ed. *Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests*. California. WB Saunders Company, 2005;658.
16. American Conference of Governmental Industrial Hygienists. *Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents & Biological Exposure Indices*. Cincinnati, OH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists; 2011.
17. Carolyn G. Lead Exposure in Pregnancy: A Review of the Literature and Argument for Routine Prenatal Screening. *Obstet Gynecol Surv*, 2001;56(4): 231-238.
18. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Screening young children for lead poisoning: guidance for state and local public health officials*. Atlanta, GA CDC, 1997.
19. Hirata M1, Yoshida T, Miyajima K, Kosaka H, Tabuchi T. Correlation between lead in plasma and other indicators of lead exposure among lead exposed workers. *Int Arch Occup Environ Health*, 1995;68(1):58-63.
20. Tsaih SW, Schwartz J, Lee ML, Amarasiwardena C, Aro A, Sparrow D, et al. The independent contribution of bone and erythrocyte lead to urinary lead among middleaged and elderly men: The normative aging study. *Environ Health Perspect*, 1999;107(5):391-396.
21. M. Saitoh, M. Uzuka, M. Sakamoto. Rate of hair growth. In: W. Montagna and R.L. Dobson, eds. *Advantages in Biology of Skin*. Oxford. Pergamon Press, 1969:183.
22. A. Taylor. Usefulness of measurements of trace elements in hair. *Ann. Clin. Biochem*, 1986; 23(4): 364-78.
23. Deeming SB, Weber CW. Hair analysis of trace minerals in human subjects as influenced by age, sex, and contraceptive drugs. *Am J Clin Nutr*, 1978;31(7):1175-1180.
24. Foo SC, Khoo NY, Heng A, Chua LH, Chia SE, et al. Metals in hair as biological indices for exposure. *Int Arch Occup Environ Health*, 1993;65(1):83-6.
25. Gil F, Hernández AF, Márquez C, Femia P, Olmedo P, Lopez-Guardino O, et al. Biomonitorization of cadmium, chromium, manganese, nickel and lead in whole blood, urine, axillary hair and saliva in an occupationally exposed population. *Sci Total Environ*, 2011;409(6):1172-80.
26. Sanna E, De Micco A, Vallascas E. Evaluation of association between biomarkers of lead exposure in Sardinian children (Italy). *Biol Trace Elem Res*, 2011;143(3):1383-92.
27. Esteban E, Rubin CH, Jones RL, Noonan G. Hair and blood as substrates for screening children for lead poisoning. *Arch Environ Health*, 1999; 54(6):436-40.

Zararlılarla mücadele adı altında semt pazarlarında satılan ürünlerin aktif içeriğinin incelenmesi

Investigation of the active composition of products traded in local street bazaars for pest control

Emine CAN-GÜVEN¹, Ahmet ÇİL¹, Banu OĞUZ¹, Deniz TEZCAN¹, Kadir GEDİK¹, Perihan Binnur KURT-KARAKUŞ²

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, Antalya ilinde yapılan toksikolojik çalışmalarda tespit edilen, yasaklı pestisitlerin güncel kullanımına yönelik bulgulardan hareketle halka açık alanlarda satılan bitki koruma ürünü ve biyosidal ürünlerin bileşiminde yer alan maddelerin nitel olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Antalya ili genelindeki semt pazarları ve tezgâh altı diye tabir edilen satıcılar ve tarımsal faaliyetlerin yoğun olarak yapıldığı ilçelerden DDT, böcek öldürücü, karınca öldürücü vb. isimle satılan toplam 19 adet numune toplanmıştır. Ürünlerin içeriğinin belirlenmesi amacıyla her birinden 100 mg tartılarak 10 mL metanol içerisinde çözüldükten sonra izooktan ile seyreltilerek Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (Shimadzu QP2010 Ultra) cihazında analizi yapılmıştır. Tarama modunda elde edilen kromatogramlar kapsamlı bir pestisit kütüphanesi olan Wiley/NIST içeriği ile eşleştirilmiştir.

Bulgular: Nitel değerlendirme sonucunda örneklerde etken maddesi klorpirifos-etil olan Dursban maddesinin yanı sıra diklorvos, aldicarb ve sipermetrin bulunduğu görülmüştür. Bu etken maddelere ek olarak örneklerde değişik oranlarda sebasik asit, merkaptan,

ABSTRACT

Objective: In this study, it was aimed to determine qualitatively the substances in the composition of biocidal products and plant protection sold in public areas with reference to current use of prohibited pesticides detected in toxicological studies conducted in Antalya province.

Methods: A total of 19 samples sold under the name of DDT, insecticide, termiticide were gathered from public markets, illegal suppliers and districts where agricultural activities take place in Antalya province. To identify ingredients of products, after 100 mg of each was weighed and dissolved in 10 ml methanol, it was diluted with isooctane, and tested to instrumental analysis on a Gas Chromatography-Mass Spectrometry (Shimadzu QP2010 Ultra). Chromatograms gathered from scan mode were matched with the content of Wiley/NIST which has a comprehensive pesticide library.

Results: AAs a result of qualitative evaluation, it was observed that dichlorvos, aldicarb and cypermethrin as well as Dursban whose active ingredient is chlorpyrifos-ethyl in the samples. In addition to these active ingredients, inactive ingredients (extender) such

¹Akdeniz Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Antalya
²Bursa Teknik Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Bursa



İletişim / Corresponding Author : Kadir GEDİK

Akdeniz Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü 07058 Antalya - Türkiye
Tel : +90 535 829 85 87 E-posta / E-mail : kgedik@akdeniz.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 19.01.2016
Kabul Tarihi / Accepted : 24.07.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.55823

Can-Güven E, Çil A, Oğuz B, Tezcan D, Gedik K, Kurt-Karakuş PB. Zararlılarla mücadele adı altında semt pazarlarında satılan ürünlerin aktif içeriğinin incelenmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(4): 311-322

propiyonik asit gibi yardımcı maddeler (dolgu maddeleri) tespit edilmiştir. En fazla tespit edilen etken madde, numunelerin %31,6'sında görülen klorpirifos-etil iken en fazla tespit edilen yardımcı madde sebasik asittir (%47,4).

Sonuç: Analiz edilen ürünlerin bazılarının içeriğinde insan sağlığı için tehdit oluşturabilecek ve USEPA tarafından kanserojen olarak sınıflandırılmış maddelerin olduğu veya zararlı canlılara tesir edecek herhangi bir etken madde içermeyen ürünlerin kontrol ve denetimden uzak bir şekilde ticari faaliyetlerde kullanıldığı görülmüştür. Bu tür ürünlerin yeterli bilgi birikimi olmayan kişiler tarafından bilinçsiz şekilde uygulanmasının gerek kullanıcı ve gerekse çevre sağlığı açısından ciddi risk oluşturabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: halk sağlığı, bitki koruma ürünü, biyosidal, pestisit, klorpirifos, diklorvos, aldicarb, sipermethrin.

as sebacic acid, mercaptane, propionic acid were detected at varying ratios in the samples. While chlorpyrifos-ethyl was mostly detected in 31.6% of the active content available, sebacic acid (47.4%) was mostly detected as extender ingredient as well.

Conclusion: It has been observed that there are materials that are classified as carcinogenic by USEPA and may pose a threat to human health in the content of some of the products analyzed, or that the products which do not contain any active ingredient affecting insect pests have been used in commercial activities away from control and supervision. It is considered that the unconscious implementation of such products by persons with insufficient knowledge may constitute a serious risk in terms of both user and environment.

Key Words: public health, plant protection product, biocidal, pesticide, chlorpyrifos, dichlorvos, aldicarb, cypermethrin.

GİRİŞ

Zirai üretimde, endüstriyel ürünlerde ve/veya ev, okul, hastane gibi kapalı ortamlarda halk sağlığını tehdit eden zararlılarla mücadelede en sık uygulanan yöntemler biyosidal ürün veya bitki koruma ürünleri kullanımıdır. “Bir veya birden fazla aktif madde içeren, kullanıma hazır halde satışa sunulmuş, kimyasal veya biyolojik açıdan herhangi bir zararlı organizma üzerinde kontrol edici etki gösteren veya hareketini kısıtlayan, uzaklaştıran, zararsız kılan, yok eden aktif maddeler ve müstahzarları” olarak tanımlanan biyosidal ürünler, kullanım amacı veya alanına göre dezenfektanlar, koruyucular, haşere kontrolü için kullanılan ve diğer biyosidal ürünler şeklinde gruplandırılmaktadır (1). Bitki koruma ürünleri ise kısaca “Bitki ve bitkisel ürünleri zararlı organizmalara karşı koruyan veya bu organizmaların etkilerini önleyen, istenmeyen bitki

veya bitki kısımlarını yok etmek, kontrol etmek veya önlemek amacıyla kullanıcıya bir veya daha fazla aktif madde içeren bir formülasyon halinde sunulan aktif madde ve preparatlar” olarak tanımlanmaktadır (2). Söz konusu ürün gruplarının piyasaya sunulabilmesi için yönetmeliklere göre belirli kriterleri sağlaması ve ruhsatlandırılması gerekmektedir (1, 2). Bu ürünlerin satışında formülasyonu, son kullanma tarihi, kullanım ve saklama koşulları, kullanımına dair dikkat edilmesi gereken hususları içeren etiketlerin ürünlerin üzerinde yer alması gerekmektedir. Çevre ve halk sağlığı açısından toksik, kanserojen ve mutajen özellikte olanlar ise sadece profesyoneller tarafından kullanılmalı, gezici satış yerleri ve halkın kolayca ulaşabileceği yerlerde reçetesiz olarak satılmamalıdır (1, 2).

1900'lü yıllardan bu yana zirai üretimde verimi ve kaliteyi arttırmak amacıyla kullanılan kimyasal savaşım ürünleri, genel olarak pestisit ismiyle anılmaktadır. Yaygın uygulama alanı olan pestisitlerin halk sağlığı ve gıda ürünlerinin korunması amacıyla zararlı canlılarla mücadelede sağladıkları faydalar inkâr edilememekte, fakat bu kimyasalların kontrolsüz, denetimsiz ve eğitimsiz bir şekilde kullanımı hem çevresel açıdan sorun oluşturmakta hem de insan sağlığını tehdit etmektedir (3, 4). Pestisitlerin kullanımıyla ilgili doğru bilgi, tutum ve davranış geliştirebilmesi için daha çok eğitim, davranış değişikliği sağlayacak programlar ve denetime ihtiyaç bulunmaktadır (5). Ancak, üretici-satıcı bağlamında karşılaşılan ve müdahalenin sınırlı olduğu durumlarda, izleme çalışmaları veya maruziyet bazlı bulgular ile farkındalık kazanılmaktadır. Turgut ve ark. (2009) tarafından Türkiye'de satılan dikofol formülasyonlarındaki dikloro difenil trikloroethan (DDT) miktarının araştırıldığı çalışma sonucunda safsızlık olarak %0,1'i geçmemesi gereken oranın %0,3-14,3 aralığında olduğu tespit edilmiştir (6). Belirli bir standarda sahip olmayan ticari ürünlerin yasaklı bir pestisit olan DDT için güncel kirlilik kaynağı oluşturması, ulusal veya uluslararası menşei çalışmalarda belirtilmektedir (6-9). Antalya ilinde DDT adı altında satılan sınırlı sayıda örnek ile yapılan çalışmada, örneklerde DDT'ye rastlanmamış ancak zararlı etkileri bilinen klorpirifos maddesi tespit edilmiştir (10). Antalya'da yapılan diğer bir çalışmada (11), yaş ortalaması 28,5±5,2 olan 100 anneden alınan süt örneklerinde literatürle kıyaslanabilir düzeyde organoklorlu pestisit ve poliklorlu bifenil seviyesi ölçülmüştür. Numunelerde, ulusal verilere (4,5-28) kıyasla düşük (4,15) çıkan DDE/DDT oranı Antalya yöresinde yakın dönemlerde yasa dışı DDT kullanımı ihtimaline dikkat çekmektedir (11). Ülkemizde pestisit zehirlenmelerinin derlendiği bir çalışmada, pestisit kullanımının gelişmiş ülkelere göre daha düşük olmasına rağmen toplumsal eğitim eksikliği, pestisit ile intihar oranının yüksekliği, yanlış ve korunmasız pestisit kullanımı, toplumsal ve düzenleyici kuruluşlar

seviyesinde önlem ve denetimlerin yetersizliği gibi sebeplerle zehirlenmelerin daha fazla olduğu belirtilmiştir (12). Avrupa Bitki Koruma Derneği (ECPA, European Crop Protection Association) verilerine göre Avrupa'da kullanılan bitki koruma ürünlerinin %5-7'lik kısmını yasa dışı ve sahte pestisitler oluşturmaktadır (13). Öte yandan, uluslararası literatürde yer alan sınırlı sayıda çalışma incelendiğinde, Nijerya'da yerel olarak üretilen bir pestisit türünün değişen miktarlarda diklorvos içerdiği (14), farklı bir pestisit türünün yapısında toluen, benzen, diklorvos gibi pek çok maddeye rastlandığı (15), diğer bir çalışmada ise Nijerya marketlerinde satılan farklı marka pestisitlerden bir tanesinin yapısında tespit edilen maddelerin, pestisit etken maddesi olmadığı belirtilmiştir (16). Dolayısıyla, yasal veya yasal olmayan yollarla üretilen ve satılan maddelerin içeriklerinin kontrolü, kalıntı veya biyobirikim yoluyla çevre ve halk sağlığı üzerinde oluşturabileceği akut veya kronik etkiler açısından büyük önem arz etmektedir.

Bu çalışmada, turizm ve tarıma dayalı bir ekonomiye sahip Antalya ilinde yapılan toksikoloji çalışmalarından çıkan yasaklı pestisitlerin güncel kullanımına yönelik tespitlerden hareketle, semt pazarı gibi halka açık alanlarda satılan bitki koruma ürünü ve biyosidal ürünlerin bileşiminde yer alan maddelerin nitel olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Örnekleme

Antalya ili genelindeki semt pazarları, tezgah altı diye tabir edilen satıcılar ve tarımsal faaliyetlerin gerçekleştirildiği ilçelerden (Manavgat, Kumluca, Finike vb.) DDT, böcek öldürücü, kanınca öldürücü vb. isimle satılan toplam 19 adet numune araştırma ekibi tarafından toplanmıştır (Tablo 1). Örneklerin toplanması, sınırları ve evrenin genişliği nedeniyle zamana yayılarak Şubat 2014-Şubat 2015 dönemi arasında gerçekleştirilmiştir.

Tablo 1. Biyosidal ürünlerin toplandığı yerler ve özellikleri

No	Alındığı yer	Özelliği	Etiket bilgisi
1	Dedeman Kapalı Pazarı	Sıvı	-
2	Yeşilbahçe Kapalı Pazarı	Sıvı	-
3	Yeşilbahçe Kapalı Pazarı	Toz	-
4	Etiler Açık Pazarı	Toz	%5 malathion, %95 dolgu maddesi
5	Etiler Açık Pazarı	Sıvı	-
6	Etiler Açık Pazarı	Sıvı	%20 dichlorvos
7	Meltem Açık Pazarı	Sıvı	-
8	Sigorta Kapalı Pazarı	Toz	%2 etken madde, %98 dolgu maddeleri
9	Manavgat	Toz	-
10	Manavgat	Toz	-
11	Doğu Garajı	Toz	%25 chlorpyrifos ethyl
12	Kumluca	Sıvı	%10 w/w alphacypermethrin
13	Sigorta Kapalı Pazarı	Katı	%0,005 w/w brodifacoum, %99,995 w/w dolgu maddeleri ve cezbedici yemler
14	Sigorta Kapalı Pazarı	Katı	%0,05 wafarin, %0,05 malahit yeşili, %3,90 buğday unu, %50 kalın buğday kırması, %46 ince buğday kırması
15	Lara-Güzeloba Pazarı	Toz	-
16	Turunçova, Finike	Toz	-
17	Uncalı Kapalı Pazarı	Toz	-
18	Güneş Mahallesi	Toz	-
19	Kepezaltı Mahallesi	Toz	-

Ekstraksiyon ve Enstrümental Analiz

Pestisit formülasyonları içerisindeki aktif maddelerin belirlenmesine yönelik İşbirlikçi Uluslararası Pestisitler Analitik Konseyi (CIPAC, Collaborative International Pesticides Analytical Council) tarafından önerilmiş 1000'den fazla metot bulunmakla birlikte bu metotların büyük çoğunluğu her bir aktif madde için farklı analitik yöntem içermektedir (13). Bu metotlar, nicel analize yönelik olup en yaygın olarak kullanılanlar gaz ve sıvı kromatografisi teknikleridir (13). Lozowicka ve ark. (2016) tarafından katı ve sıvı matristeki pestisitlerin QuEChERS yöntemi ile ekstraksiyonu sonrası gaz kromatografisi-kütle spektrometresinde (GC-MS/MS) yapılan nicel analizlerde, geri kazanım ve tekrarlanabilirlik açısından önemli fark olmadığı belirtilmektedir (17). Öte yandan, farklı fiziksel form, aktif madde ve safsızlık içeren ürünlerin nitel analizi için ise standart bir yöntem bulunmamaktadır. Bu çalışma kapsamında, yalnızca nitel değerlendirme amaçlandığından, örneklerin içerik analizinde literatür destekli çeşitli yaklaşımlar (15-17) benimsenerek, farklı fiziksel formda (sıvı, toz) satılan ürünler için ön denemeler yapılmış ve nihai metot oluşturulmuştur. Her bir numune için farklı solventler (aseton, hekzan, diklorometan, metanol) kullanılarak yapılan ekstraksiyon ve analiz sonucunda metanol kullanılan deneylerin başarılı sonuç verdiği görülmüştür. Özetle, her bir numuneden 100 mg tartılarak 10 mL metanol (Merck, Almanya) içerisinde çözülmüş daha sonra izooktan (Merck, Almanya) ile seyreltilerek Shimadzu marka QP2010 Ultra model GC-MS cihazında analizi yapılmıştır. Analiz sırasında enjeksiyon portu sıcaklığı 250 °C, ara yüz sıcaklığı 260 °C, iyon kaynağı sıcaklığı 230 °C ve split oranı 1/10 olarak ayarlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak Helyum (1 mL/dk sabit akış hızı) ve 60 m, 0,25 mm iç çap, 0,25 µm film kalınlığı olan Restek Rxi5Sil MS marka kolon kullanılmıştır. 90 °C'de (1 dakika bekle) başlayan kolon sıcaklığı 30 °C/dak artarak 210 °C'ye (1 dakika bekle) çıktıktan sonra 10 °C/dak artarak 250 °C'ye (1 dakika bekle) daha sonra 1 °C/dak artarak 270 °C'ye (1 dakika bekle) ve en son 5 °C/dak artarak 280 °C'ye (5 dakika

bekle) çıkacak şekilde ayarlanmıştır. 50-550 kütle/yük aralığında tarama (SCAN) modunda elde edilen kromatogramlar kapsamlı bir pestisit kütüphanesi olan Wiley/NIST (W9N11) içeriği ile eşleştirilmiştir.

BULGULAR

Semt pazarlarından ve tezgah altı diye tabir edilen satıcılardan toplanan numunelerde tespit edilen tüm maddeler Tablo 2'de verilmiştir. Numunelerde tespit edilen etken maddelerin örneklerde görülme sıklığı, özellikleri, Wiley/NIST kütüphanesi ile eşleştirme sonucu elde edilen benzerlik oranları Tablo 3'te özetlenmiştir. Nitel değerlendirme sonucunda 6 adet örnekte etken maddesi klorpirifos-etil olan Dursban, hepsi farklı olmak üzere birer örnekte ise diklorvos, aldicarb ve sipermetrin bulunduğu görülmüştür. Analiz sonucunda örneklerde tespit edilen etken maddelerin, Biyosidal Ürünler Yönetmeliği Ek 5'te 3. ana grup altında 18. ürün tipi olarak sınıflandırılan insektisit ve akarisitler grubuna giren maddeler olduğu belirlenmiştir. Söz konusu maddeler, tarımsal faaliyetlerde haşere kontrolünde kullanıldığı takdirde "bitki koruma ürünü olarak" ele alınmaktadır. Çalışma kapsamında toplanan ürünlerin halk tarafından hangi amaçla kullanıldığı net olarak bilinemeyeceği gibi kullanım amacına göre bitki koruma ürünü ve/veya biyosidal ürün niteliği taşıması söz konusudur. Bu nedenle, bulguların değerlendirilmesinde her iki madde grubuna yönelik yasal düzenlemelerdeki hükümler dikkate alınmıştır.

Etken maddelerin yanı sıra örneklerde en fazla tespit edilen diğer maddeler Şekil 1'de gösterilmiştir. Örneklerde %5,26-47,4 aralığında değişen oranlarda sebasik asit, merkaptan, propiyonik asit vb. gibi yardımcı maddeler tespit edilmiştir.

Analiz sonucu elde edilen maddeler, paket üzerindeki ürüne ait tanııtım bilgisi ile karşılaştırılmıştır (Tablo 4). Etiketli bulunan örnekler içerisinden 4 tane örnekteki etken maddenin etiket içeriği ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bulunan diğer maddeler ise paket üzerinde niteliği belirtilmemiş ancak dolgu maddesi şeklinde genel olarak ifade edilen ve dolgu maddesi olduğu düşünülen maddelerdir.

Tablo 2. Örneklerde tespit edilen maddeler

Örnek No	Alındığı yer	Etken madde	Dolgu maddesi
1	Dedeman kapalı pazarı	-	Formik asit, merkaptan, sebasik asit, dodekanoik asit
2	Yeşilbahçe kapalı pazarı	-	Dibenzilamin, oktadin, üre, ksilen
3	Yeşilbahçe kapalı pazarı	Klorpirifos-etil	Propiyonik asit, d-allotreeonine
4	Etiler açık pazarı	-	Propiyonik asit, sebasik asit
5	Etiler açık pazarı	-	Benzen, ksilen, merkaptan, sebasik asit, propiyonik asit
6	Etiler açık pazarı	Diklorvos	Merkaptan, ksilen, sorbitol, sebasik asit, karbonik asit
7	Meltem açık pazarı	-	Merkaptan, propiyonik asit, sülfirik asit
8	Sigorta kapalı pazarı	-	Merkaptan, oxaly chloride, azetidine, karbonik asit, sülfirik asit
9	Manavgat	Aldicarb	Merkaptan, formik asit, karbonik asit
10	Manavgat	-	Merkaptan, propiyonik asit, sülfirik asit
11	Doğu Garajı	Klorpirifos-etil	Propiyonik asit, sülfirik asit
12	Kumluca	Sipermetrin	Merkaptan, Propiyonik Asit, Tert-butyl Hydroperoxide
13	Sigorta kapalı pazarı	-	-
14	Sigorta kapalı pazarı	-	Sebasik asit
15	Lara-Güzeloba pazarı	Klorpirifos-etil	Pentacosanol, docosenamide (eryculamide), propiyonik asit
16	Turunçova, Finike	-	Dioktil ftalat, sebasik asit
17	Uncalı kapalı pazarı	Klorpirifos-etil	Azulene, naftaline, sebasik asit
18	Güneş mahallesi	Klorpirifos-etil	Sebasik asit
19	Kepezaltı mahallesi	Klorpirifos-etil	Dkoloropen, sebasik asit

Tablo 3. Tespit edilen etken maddelerin özellikleri ve analiz sonuçlarına ilişkin bilgiler

Örnek no	Tespit edilen etken madde	Formülü	USEPA* kanserojen durumu (18)	Benzerlik oranı (%)**	Görülme sıklığı (%)***
3, 11, 15, 17, 18, 19	Klorpirifos-etil	$C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$	Klorpirifos-etil için veri yok. Klorpirifos kanserojen değil	94	31,6
6	Diklorvos	$C_4H_7Cl_2O_4P$	Kanserojen olduğuna dair bulgu var ancak insanlar üzerinde yeterli veri yok	97	5,26
9	Aldicarb	$C_7H_{14}N_2O_2S$	Kanserojen değil	94	5,26
12	Sipermetrin	$C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$	İnsanlar için muhtemel kanserojen	93	5,26

* USEPA: Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı

** Analiz sonuçlarının Wiley/NIST kütüphanesi ile eşleştirilmesi sonucu bulunan değer

*** Etken maddenin örneklerde görülme sıklığı

Tablo 4. Etiket bilgisi olan numuneler ile analiz sonuçlarının karşılaştırılması

Örnek no	Etiket bilgisi	Analiz sonucu bulunan içerik
4	%5 malathion, %95 dolgu maddesi	Sebasik asit
6	%20 dichlorvos	Diklorvos, sebasik asit, merkaptan
8	%2 etken madde, %98 dolgu maddeleri	Merkaptan
11	%25 chlorpyrifos ethyl	Klorpirifos-etil
12	%10 w/w alphacypermethrin	Sipermetrin
13	%0,005 w/w brodifacoum, %99,995 w/w dolgu maddeleri ve cezbedici yemler	-
14	%0,05 wafarin, %0,05 malahit yeşili %3,90 buğday unu, %50 kalın buğday kırması, %46 ince buğday kırması	Sebasik asit

TARTIŞMA

Örneklerin %31,6'sında tespit edilen ve klorpirifos-etil etken maddesi içeren Dursban, organofostatlı bir insektisit olup evlerde hamamböceği, pire, karınca ve kene gibi zararlılara karşı kullanılmasının yanı sıra tarımsal alanlarda da zararlılarla mücadele amacıyla kullanılmaktadır. Toprağa uygulandığında uzun süreler toprakta kalır ve insanlara gıdalarla doğrudan ve/veya hava ve deriden temas yoluyla dolaylı bir şekilde bulaşabilir. Kullanım amacı dışında iç ortamlarda gelişigüzel uygulanması sonucu sinir sisteminde hasar, gelişim bozuklukları, anne karnındaki bebeğin beyin fonksiyonlarında kalıcı hasarlar vb. sağlık sorunlarına neden olabileceği çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir (19-21). Bu etkileri nedeniyle kapalı alanlarda kullanımı USEPA (Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı, United States Environmental Protection Agency) tarafından 2000 yılında yasaklanmıştır. 2012 yılında ise evler ve rekreasyonel amaçlı yerler de dahil olmak üzere yaşam alanlarına yakın olan yerlerde püskürtülerek uygulanması yasaklanmıştır (22). Ülkemizde klorpirifos-etil ithalatı ve kullanımının yasaklanmasına yönelik alınan karar Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından 28.03.2016 tarihinde yayınlanmıştır (23). Bu karara göre özetle aşağıdaki hükümler getirilmiştir:

- Klorpirifos-etil aktif maddesi ve bu aktif maddeyi içeren bitki koruma ürünlerinin ithal izinlerinin sonlandırılması,
- Klorpirifos-etil aktif maddesini içeren bitki koruma ürünlerinin etiketlerinde bulunan elma, armut, şeftali, bağ, patates, domates, biber, patlıcan ile meyve ve sebze genel tavsiyelerinin iptal edilmesi, piyasada var ise toplatılması ve satışının sonlandırılması,
- Bu etken maddeyi içeren bitki koruma ürünlerinin yeni ruhsat başvurularının kabul edilmemesi, ruhsat aşamasında olan ürünlerin ise 2018 yılında yapılacak olan değerlendirmeye kadar ruhsat ve tavsiye işlemlerinin askıya alınması,
- Konunun 2018 yılında Bakanlıkça yeniden değerlendirilmesi.

DDVP (2,2-diklorovinil dimetil fosfat) olarak da bilinen diklorvos, insektisit ve akarisit grubuna giren organofostatlı bir pestisittir. Çiftlik ve ev hayvanlarındaki parazitlerin veya açık/kapalı alanlardaki böceklerin kontrolünde kullanılmaktadır. Diklorvos maruziyetinde insanlardaki asetilkolinesteraz enzimi inhibe olarak sinir sisteminin çalışması olumsuz etkilenir. Uçuculuğu yüksek bir madde olduğundan deri, sindirim ve solunum yoluyla vücuda kolayca girebilir (24). USEPA tarafından yapılan risk değerlendirmesinde bu maddenin sucül canlılarda, kuşlarda, küçük memelilerde, bal arılarında ve hedeflenmeyen bazı yararlı organizmalar üzerinde akut ve/veya kronik etkilerinin olduğu belirtilmiştir (25). Ülkemizde imalat ve ithalatı 31.08.2009, kullanımı ise 31.08.2011 tarihinden itibaren yasaklanmıştır (26). Temik ticari adıyla pazarlanan ve bölgede hala kullanımda olan aldıcarb etken maddeli ürün, zararlı böcekler üzerinde etki gösteren bir insektisittir. USEPA tarafından oldukça toksik olarak tanımlanan bu kimyasala maruziyet sonrası insanlarda baş ağrısı, halsizlik, bulanık görme, bulantı gibi etkilerin yanı sıra, yüksek dozlarda maruziyet solunum sistemine hasar vererek ölüme neden olabilmektedir (27). Bu etkileri nedeniyle ülkemizde imalatı ve ithalatı 01.01.2009 tarihinde, kullanımı ise 01.01.2011 tarihinde yasaklanmıştır (26).

DDT adı altında Kumluca ilçesinden temin edilen örnekte DDT ve türevlerine rastlanmamış ancak sipermetrin tespit edilmiştir. Genellikle meyve ve sebzelerdeki böceklerle mücadele amaçlı kullanılan sipermetrinin alfa-, beta-, zeta- ve para- gibi türleri bulunmaktadır. Örnekte tespit edilen türün ise örneğin etiket bilgisinden hareketle alfa-sipermetrin olduğu düşünülmektedir. Ülkemizde alfa-sipermetrine yönelik bir yasal düzenleme bulunmazken, beta-sipermetrinin kullanımı 01.01.2011 tarihinden itibaren yasaklanmıştır (26).

Etken maddelerin yanı sıra örneklerin %47,4'ünde tespit edilen sebasik asit hint yağının alkali koşullarda yüksek sıcaklıklara ısıtılması ile elde edilen 10

karbonlu dikarboksilik asittir (28). Vinil klorür reçinelerine plastikleştirici olarak eklenmesinin yanı sıra sentetik yağlama yağı olarak da kullanılmaktadır (28). Bu maddenin, pestisit üretimi sırasında çözücü olarak kullanıldığı düşünülmektedir. Örneklerde en fazla tespit edilen ikinci madde olan merkaptan, metanol ve hidrojen sülfürden oluşan bir bileşiktir. Pestisit, fungusit, jet yakıtı ve plastik üretiminde kullanılan bir ara ürün olduğundan örneklerde tespit edildiği düşünülmektedir (29). Örneklerde tespit edilen diğer maddelerden olan benzen ve ksilen endüstride ve pestisit üretiminde hammadde, ara ürün ve organik solvent olarak yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (30). Bu maddeler, insanlarda, maruz kalınan konsantrasyona göre koma ve ölüme kadar gidebilen zararlı etkiler doğurabilmektedir. USEPA tarafından yapılan kanserojen sınıflandırılmasına göre ksilen kanserojen etkiye sahip değilken, benzen kanserojen özellik gösterebilen bir maddedir (31). Yukarıda özellikleri verilen sebasik asit, formik asit, merkaptan, dodekanoik asit, ksilen, benzen gibi maddelerin alınan numunelere dolgu maddesi veya yardımcı madde olarak eklendiği, dolayısıyla analiz sonuçlarına yansdığı düşünülmektedir.

Sağlık Bakanlığı'nın yetkisinde bulunan Biyosidal Ürünler Yönetmeliği'ne göre biyosidal ürünlerin piyasaya sunulabilmesi için yönetmelikte belirtilen kriterleri sağlaması ve Sağlık Bakanlığı tarafından ruhsatlandırılması gerekmektedir. Öte yandan, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından uygulanan "Bitki Koruma Ürünlerinin Toptan ve Perakende Satılması İle Depolanması Hakkında Yönetmelik" (2) içerisinde:

- Bayiler, bitki koruma ürünlerini gezici olarak işyerleri ve depoları dışında satamazlar.
- Bayiler, bitki koruma ürünlerini, reçetesiz veya Bakanlıkça belirlenen şartlar dışında satamazlar.
- Bitki koruma ürünleri perakende satışlarının, izin belgesi sahibi kişiler nezaretinde yapılması esastır.
- Bayiler, Bakanlıkça onayı bulunmayan, sahte ve kaçak bitki koruma ürünleri ile etiketsiz ve kullanma süresi geçmiş bitki koruma ürünlerini bulundurmaz ve satamazlar.

ifadeleri yer almaktadır. Bu çalışma kapsamında analizi yapılan biyosidal ürünlerin ve bitki koruma ürünlerinin halka açık pazarlarda, denetimsiz ve reçetesiz satılması yönetmeliklerdeki hükümlere uymamaktadır. Ayrıca, analiz edilen 19 adet örneğin sadece 7'sinin üzerinde etiket bulunmakta ve içeriği yazmaktadır. Geri kalan yaklaşık %70'lik kısmı gazete kağıdı arasında, plastik şişelerde, torbalarda etiketsiz ve insanlar ile çok kolay temas edecek şekilde halka arz edilmektedir. Analiz edilen ürünlerin bazılarının içeriğinde insan sağlığı için tehdit oluşturabilecek ve USEPA tarafından kanserojen olarak sınıflandırılmış maddelerin olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak söz konusu maddelerin halka açık pazarlarda ve tezgah altı diye tabir edilen satıcılarda gelişigüzel satılması ve alıcılar tarafından bilinçsiz kullanımı çevre ve insan sağlığı açısından risk teşkil etmekte ve yönetmeliklerdeki hükümlere aykırılık göstermektedir. Bu ürünleri, tezgâh altı diye tabir edilen satıcıların temin edip satabiliyor olması ilgili konuda yasadışı ve yaygın bir satış ağı olduğuna işaret etmekte olup bu duruma yönelik denetimlerin artırılması gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, TÜBİTAK-112Y175 No.lu kariyer projesi kapsamında gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Biyosidal Ürünler Yönetmeliği, Resmi Gazete tarihi/sayısı: 31 Aralık 2009/27449.
2. Bitki Koruma Ürünlerinin Toptan ve Perakende Satılması İle Depolanması Hakkında Yönetmelik, Resmi Gazete tarihi/sayısı: 10.03.2011/27870.
3. Tiryaki O, Canhilal R, Horuz S. Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Derg, 2010; 26 (2): 154-69.
4. Dinçel A, Demli F, Uzun R, Alatan F. Pestisit zehirlenme şüphesi ile gıda toksikolojisi laboratuvarına gönderilen numunelerin GC-MS ile analizi. Türk Hij Den Biyol Derg, 2008; 65 (1): 7-15.
5. Uskun E. Tarım çalışanlarının bitki koruma ürünleri konusunda bilgi ve davranışları. Türk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72 (3): 241-54.
6. Turgut C, Gokbulut C, Cutright TJ. Contents and sources of DDT impurities in dicofol formulations in Turkey. Environ Sci Pollut Res, 2009; 16 (2): 214-7.
7. Qiu X, Zhu T. Using the o,p'-DDT/p,p'-DDT ratio to identify DDT sources in China. Chemosphere, 2010; 81 (8): 1033-8.
8. Turgut C, Cutright TJ, Mermer S, Atatanır L, Turgut N, Usluy M, et al. The source of DDT and its metabolites contamination in Turkish agricultural soils. Environ Monit Assess, 2013; 185 (2): 1087-93.
9. Bosch C, Grimalt JO, Fernández P. Enantiomeric fraction and isomeric composition to assess sources of DDT residues in soils. Chemosphere, 2015; 138: 40-6.
10. Can-Güven E, Bolat D, Çelik H, Kurt-Karakuş PB, Gedik K. Semt pazarlarında satılan zararlı canlılarla mücadele ilaçlarından kaynaklanan gizli tehlike. Türk Toksikoloji Derneği III. Bölgesel Toksikoloji Sempozyumu. Haziran, 12-14, İzmir-Türkiye. 2014.
11. Cok I, Yelken C, Durmaz E, Uner M, Sever B, Satır F. Polychlorinated biphenyl and organochlorine pesticide levels in human breast milk from the Mediterranean city Antalya, Turkey. Bull Environ Contam Toxicol, 2011; 86 (4): 423-7.
12. Özkaya G, Çeliker A, Koçer-Giray B. İnsektisit zehirlenmeleri ve Türkiye'deki durumun değerlendirilmesi. Türk Hij Den Biyol Derg, 2013; 70 (2): 75-102.
13. Płonka M, Walorczyk S, Miszczyk M. Chromatographic methods for the determination of active substances and characterization of their impurities in pesticide formulations. Trends in Analytical Chemistry, 2016; in press, doi: 10.1016/j.trac.2016.03.011.
14. Musa U, Hati SS, Mustapha A, Magaji G. Dichlorvos concentrations in locally formulated pesticide (Ota-piapia) utilized in Northeastern Nigeria. Sci Res Essays, 2010; 5 (1): 49-54.
15. Ofordile PC, Okoye PAC, Raphael P. Determination of actual chemical composition of a locally formulated pesticide product in a Nigerian market. IJST, 2014; 3 (4): 244-7.
16. Ofordile PC, Okoye PAC, Abugu OH, Rafael P. Comparative analysis of some brands of pesticides utilized in Eastern Nigerian environment. IJIRD, 2014; 3 (3): 506-11.
17. Lozowicka B, Ilyasova G, Kaczynski P, Jankowska M, Rutkowska E, Hrynko I, et al. Multi-residue methods for the determination of over four hundred pesticides in solid and liquid high sucrose content matrices by tandem mass spectrometry coupled with gas and liquid chromatography. Talanta, 2016; 151: 51-61.
18. USEPA. Chemicals Evaluated for Carcinogenic Potential. U.S. Environmental Protection Agency. Science Information Management Branch, Health Effects Division, Office of Pesticide Programs. 2004.
19. Rauh VA, Perera FP, Horton MK, Whyatt RM, Bansal R, Hao X, et al. Brain anomalies in children exposed prenatally to a common organophosphate pesticide. Proc Natl Acad Sci USA, 2012; 109 (20): 7871-6.
20. USEPA. Human Health Risk Assessment Chlorpyrifos. US Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs. 2000:EPA QA/G-9, QA00 Version, Washington.

21. Fenske RA, Black KG, Elkner KP, Lee CL, Methner MM, Soto R. Potential exposure and health risks of infants following indoor residential pesticide applications. *Am J Public Health*, 1990; 80 (6): 689-93.
22. USEPA. US Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs Reregistration Eligibility Decision for Chlorpyrifos. İnternet adresi: https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/reregistration/red_PC-059101_1-Jul-06.pdf. Erişim tarihi:14.06.2016.
23. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Bitki Koruma Ürünleri Daire Başkanlığı, Chlorpyrifos-ethyl ile ilgili karar. İnternet adresi: <https://bku.tarim.gov.tr/Duyuru/DuyuruDetay/1>. Erişim tarihi:10.06.2016.
24. Dere E, Özdikicioğlu F, Tosunoğlu H. İntraperitoneal diklorvos uygulamasının sıçanların (*Rattus norvegicus*) bazı dokularında glukoz 6-fosfat dehidrogenaz ve malat dehidrogenaz aktiviteleri üzerine etkisi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2007; 33 (1): 5-10.
25. USEPA. Summary Document Registration Review: Initial Docket. United States Environmental Protection Agency. İnternet adresi: <https://www.regulations.gov/#!documentDetail;D=EPA-HQ-OPP-2009-0209-0003>. Erişim tarihi:14.06.2016.
26. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Yasaklanan Bitki Koruma Ürünleri Aktif Madde Listesi. İnternet adresi: <http://www.tarimgovtr/Konu/934/Yasaklanan-Bitki-Koruma-Urunleri-Aktif-Madde-Listesi>. Erişim tarihi:24.04.2015.
27. USEPA. Illegal Pesticide Products. United States Environmental Protection Agency. İnternet adresi: <http://www.epa.gov/pesticides/health/illegalproducts/#pet>. Erişim tarihi:25.04.2015.
28. Ogunniyi DS. Castor oil: a vital industrial raw material. *Bioresour Technol*, 2006; 97 (9): 1086-91.
29. Methyl mercaptan [MAK Value Documentation, 2003]. The MAK Collection for Occupational Health and Safety. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 2012; 218-26.
30. Wang T, Bo P, Bing T, Zhaoyun Z, Liyu D, Yonglong L. Benzene homologues in environmental matrixes from a pesticide chemical region in China: occurrence, health risk and management. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2014; 104C (1): 357-64.
31. Alyüz B, Veli S. İç ortam havasında bulunan uçucu organik bileşikler ve sağlık üzerine etkileri. *Trakya Univ J Science*. 2006; 7 (2): 109-16.

Kırmızı biberde aflatoksin oluşturmayan *Aspergillus flavus* izolatlarının belirlenmesi

Determination of *Aspergillus flavus* isolates that do not produce aflatoxin in red pepper

Bekir Bülent ARPACI¹, Ayhan AK², Kerim KARATAŞ², Mehmet KOÇ¹, Peter J. COTTY³

ÖZET

Amaç: Türkiye'nin güneyinde yer alan Kahramanmaraş, kırmızı biber üretmek için geniş üretim alanlarına sahiptir. Kurutulmuş kırmızıbiber dünyada en çok üretilen baharattır ve kurutulmuş gıdalar en fazla mikotoksin bulaşımına maruz kalan ürünlerdir. Bu mikotoksinlerden aflatoksinler *Aspergillus* cinsine giren birçok tür tarafından üretilen zehirli fungal bileşiklerdir. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğine göre baharatlarda toplam aflatoksin miktarı 10 µg/kg ile sınırlandırılmıştır. Aflatoksinle bulaşık ürünlerin toksik ve kanser yapıcı etkileri bulunabilir. Aflatoksin bulaşımı ürünün kalitesini düşürür ve pazarlama olanaklarını sınırlandırır. *Aspergillus flavus* türü S ve L ırkları olarak iki gruba ayrılabilir. S ırkları genel olarak L ırklarından daha fazla aflatoksin oluşturma eğilimindedirler. L ırkına giren *Aspergillus* küflerinin birçoğu aflatoksin oluşturmamaktadır. Toksin üretmeyen *A. flavus* izolatları aflatoksin bulaşımının önlenmesi amacı ile biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilir. Bu çalışma kırmızıbiberde aflatoksin üreten türleri ve uygun koşullar altında da olsa toksin üretme yeteneği bulunmayan izolatları belirlemek amacı ile yürütülmüştür.

ABSTRACT

Objective: Kahramanmaraş, located south of Turkey, has large cultivation areas in order to produce red pepper. Dried red pepper is the most produced spice in the world and dried foods are products exposed to the most mycotoxin contamination. Of these mycotoxins, aflatoxins are toxic fungal compound produced by several species of *Aspergillus* genus. According to Turkish Food Codex Regulation on Contaminants it was limited total aflatoxin amount in spices with 10 µg/kg. Aflatoxin contaminated products may be effect toxic and carcinogenic. Contamination with aflatoxins reduces crop quality and limits marketing possibilities. *Aspergillus flavus* species can be divided into two groups as S and L strains. Generally S strain tends to produce greater quantities of aflatoxins than do L strain. Many of the *Aspergillus* molds belonging L strain cannot produce aflatoxin. Non toxigenic isolates of *A. flavus* can be used as biological control agents to prevent aflatoxin contamination. This study was carried out in order to determine the aflatoxin -producing species on red pepper and identify isolates that lack the ability to produce toxins under suitable conditions.

¹Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, 79000 Kilis

²Doğu Akdeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma İstasyonu Müdürlüğü, Kahramanmaraş

³Arizona Üniversitesi, Ziraat Koleji Bitki Hastalıkları Bölümü, ABD



İletişim / Corresponding Author: Bekir Bülent ARPACI

Kilis 7 Aralık Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Merkez Kampüs 79000 KİLİS / Türkiye

Tel : +90 505 507 11 42

E-posta / E-mail : bbarpaci@kilis.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 03.07.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 23.05.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.36034

Arpacı BB, Ak A, Karataş K, Koç M, Cotty PJ. Kırmızı biberde aflatoksin oluşturmayan *Aspergillus flavus* izolatlarının belirlenmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(4): 323-332

Yöntem: İzole edilen *A. flavus* S ve L ırkları A&M sıvı ortamına aktarılmıştır. Aflatoksin kantifikasyonu HPLC ile yapılmıştır.

Bulgular: Kırmızıbiber örneklerinden izole edilen *A. flavus* izolatlarının aflatoksin üretme yetenekleri belirlenmiştir. Toplam 15 örnekten izole edilen 212 *A. flavus* izolatının 63'ü uygun koşullar altında aflatoksin üretememiştir.

Sonuç: Çalışmada küf ile bulaşık kırmızıbiber örneklerindeki *Aspergillus* türleri belirlenmiştir. *A. flavus*, örneklerde baskın tür olarak bulunmuştur. Örneklerin aynı zamanda *A. parasiticus* ve *A. tamari* türleri ile de bulaşık olduğu belirlenmiştir. Toksin üreten izolatların ürettikleri aflatoksin miktarı ise 3,2 Log₁₀ ppb ile 6,7 Log₁₀ ppb arasında değişiklik göstermiştir. Bununla birlikte kırmızıbiber örneklerinde *A. flavus* türünün S ırkına nadir rastlandığı, büyük oranda L ırkının görüldüğü belirlenmiştir. Propagül sayısı ile izolatların toksin üretme kabiliyetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamamıştır.

Anahtar Kelimeler: kırmızıbiber, aflatoksin, *Aspergillus*, *A. flavus*

Method: S and L strains of *A. flavus* isolated were transferred to A&M media. Aflatoxin quantification was made with HPLC.

Results: It was determined that aflatoxin producing abilities of *A. flavus* isolates isolated from red pepper samples. 63 of 212 *A. flavus* isolates isolated from total 15 samples could not produce aflatoxin under suitable conditions.

Conclusion: *Aspergillus* species were determined in mold contaminated red pepper samples in the study. *A. flavus* was found as dominant species in the samples. The samples were also determined to contaminate with *A. parasiticus* and *A. tamara* species. Aflatoxin quantity of toxin producing isolates varied between 3,2 Log₁₀ ppb and 6,7 Log₁₀ ppb. Additionally, while it was determined that S strain of *A. flavus* was rarely found, L strain was mostly found in red pepper samples. It was not found any statistically significant relationship between the number of propagules and toxin producing ability of isolates.

Key Words: red pepper, aflatoxin, *Aspergillus*, *A. flavus*

GİRİŞ

Mikotoksin üreten mantarlar, bitkiyi hasat öncesi veya hasat sonrası dönemde enfekte edebilirler. Bu mantarların sporları hava akımlarıyla her yere taşınabilir. *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* ve *Claviceps* gibi mantar cinslerinin düşük molekül ağırlıklı sekonder metabolitleri olan doğal toksinler insan ve hayvan sağlığı üzerinde güçlü toksik etkiler oluşturmaktadır. Bu toksinlerden biri olan aflatoksinler baharatlarda sık görülen kontaminantlarındandır (1).

Dünyanın toplam taze biber üretimi 30 milyon ton, kurutulmuş biber üretimi üç milyon tondur. Karabiber üretimi ise 400 bin ton olup bu

değer kurutulmuş biber üretiminin onda biri kadardır. Bu değerler biberin en fazla üretimi yapılan baharat olduğunun göstergesidir. Dünyada en çok biber üretimi yapan ülke, 15 milyon ton üretim değeri ile Çin'dir. Türkiye ise iki milyon ton biber üretimi ile Meksika'nın arkasında yer almaktadır. Kurutulmuş kırmızıbiber üretiminde ise, 1.500.000 ton ile Hindistan ilk sırada yer alırken, bu ülkeyi sırasıyla 280.000 ve 200.000 ton üretim ile Çin ve Pakistan izlemektedir. Türkiye 15.000 ton kırmızıbiber üretimiyle, Nepal'in ardından 24. sıradadır (2).

Gıdalarda kullanılan birçok baharat küf sporları, mayalar ve bakterilerin bulaşımına

maruz kalmaktadır. Baharat üretiminde kullanılan meyvelerin üretildiği bitkiler toprak ve su ile temas halinde olduklarından bulaşım kolay ve çabuk bir şekilde gerçekleşir. Kırmızı pul biber ülkemizde yoğun olarak tüketilen baharatların başında gelmektedir. Ülkemizde yapılan çalışmalar bu baharatın yaygın olarak çeşitli mikroorganizmalar tarafından bulaşıma maruz kaldığını göstermiştir (3- 5). Türkiye’de kırmızı biberde aflatoksin düzeyinin yasal limitlerin üzerinde bulunabildiğine dair çalışmalar bulunmaktadır (6-9). Benzer durum diğer ülkelerde de söz konusudur (10-12).

Mikotoksinler arasında önem yönünden ilk sırayı alan aflatoksinler yeryüzünde yaygın olarak bulunan *Aspergillus* cinsine ait hifli mantarlar tarafından üretilirler. *Aspergillus* cinsi mantarlar konidyumları ile alerjik reaksiyonlara sebep olabildikleri gibi ürettikleri aflatoksin ile karaciğerde adenoma ve kanser oluşumuna neden olabilmektedir (13). Aflatoksin oluşturan küflere 24-30 °C sıcaklıkta ve % 14 ve üzerinde nem içeren birçok gıda maddesinde rastlanabilmektedir. Birçok araştırmacı kırmızı biberin aflatoksin yönünden oldukça riskli bir baharat olduğunu bildirmiştir (3- 5, 10). Türkiye’de çeşitli gıda maddelerindeki aflatoksin miktarları ve küf oluşturan türler belirlenmiş ve risk görülen ürünlerde varlığı nicel olarak ortaya konmuştur (6, 7, 14). Bununla birlikte Flavi seksiyonuna giren bütün *Aspergillus* küfleri aflatoksin oluşturmamaktadır (15). Bazı toksin oluşturmeyen *Aspergillus flavus* izolatları yerfıstığı (16) , pamuk (17) ve mısır (18) ürünlerinde aflatoksin kontaminasyonunun azaltılmasında etkin bir şekilde kullanılmaktadır.

A. flavus türü morfolojik, fizyolojik ve genetik kriterler bakımından iki gruba ayrılabilir. L ırkı izolatlarının aflatoksin oluşturma kabiliyetleri değişiklikler göstermekle beraber büyük bir bölümü toksin oluşturmamaktadır. Morfolojik olarak daha küçük sklerotlar oluşturan S ırkı izolatları yoğun

aflatoksin oluşturma eğilimindedirler. Bu ırk içerisinde aflatoksin oluşturmeyen izolat nadiren görülmektedir (19- 22). S ırkı, Aflatoksin B üreten SB ve Aflatoksin B ve G üreten SBG olmak üzere iki alt gruba ayrılır (23). Günümüzde aflatoksin üretmeyen birçok *A. flavus* izolatının rekabet gücünden faydalanılarak ürünlerdeki aflatoksin kontaminasyonunu düşürmede kullanıldığı bildirilmiştir (24, 25). Bu ırklardan biri olan AF36 son zamanlarda Birleşik Devletler Çevre Koruma Ajansı tarafından pamuk üretilen alanlarda aflatoksin bulaşımını azaltmada kullanılmak üzere biopestisit olarak tescil edilmiştir (24, 26). Bu çalışmada küf ile bulaşık biber örneklerinde bulunan *Aspergillus* türleri belirlenmiştir. Bu türler arasında en yaygın bulunan *A. flavus* türü içerisinde uygun koşullarda aflatoksin üretmeyen *A. flavus* izolatlarını belirlemek amaçlanmıştır.

1. Gereç ve Yöntem

1.1. Örneklerin Toplanması

Kahramanmaraş Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü tarafından kırmızı biber üretimi yapan işletmelerden toplanan örnekler çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Küf oluşumunun belirlendiği 15 örnek 250’şer gramlık paketler halinde hazırlanmıştır.

1.2. Örneklerin Hazırlanması

Aspergillus türünün Flavi seksiyonuna dahil olan türlerin belirlenmesi *A. flavus* izolatlarının aflatoksin üretme potansiyelleri ile belirtilen yöntemler doğrultusunda Arizona üniversitesinden Peter Cotty tarafından yapılmıştır (15,27,28).

1.2.1. Türlerin belirlenmesi

Örnekler steril saf su ile 10 dakika çalkalanmış, filtrelerden süzölmüş ve fungal süspansiyon hazırlanmıştır. Süspansiyon içinde %5 V-8 ve %2’lik Agar ile %2’lik PDA bulunan ortamlara ekilmiştir. 31°C’de beş gün inkübe edildikten sonra ortamlarda

koloni oluşturma birimi sayımları gerçekleştirilmiştir (20). Gelişen funguslardan *Aspergillus* türleri ayrılmış ve 0,05 g/lt streptomisin ve 0,05 g/lt kloramfenikol ilave edilmiş PDA ve 5/2 Agar içeren ortama alınmıştır. *Aspergillus* ırkları 31°C de yedi gün 5/2 agar ortamında alt kültüre alındıktan sonra S ve L ırkları belirlenmiştir (20).

1.2.2. *Aspergillus flavus* izolatlarının aflatoksin üretme potansiyelleri

İzole edilen *A. flavus* S ve L ırkları A&M sıvı ortamına aktarılmıştır (17). Bu ortamlar 70 ml olarak 250 ml'lik erlenmeyerlere alınmış ve 100 µl (5000-7000 konidi) süspansiyon ilave edilmiştir. 30°C'de karanlık koşullarda 150 devir/dk çalkalayıcıda beş gün fermente edilmiştir. Ardından her erlene misellerden aflatoksin ayırmak maksadı ile 70 ml aseton eklenmiştir. Bu solüsyon dört numara Whatman filtre kağıdından süzülüş ve 100 ml solüsyona 100 ml steril saf su ilavesi yapılmıştır. Süzüntü 250 ml'lik ayırma hunisinde 25 ml metilen klorid ile iki kez ekstrakte edilmiştir. Kalan su kısmını almak amacı ile süzüntü 50 gr susuz sodyum sülfattan geçirilmiş ve 25 ml metilen klorid ilave edilerek organik fazın sodyum sülfattan ayrılması sağlanmıştır. (23). Metilen klorid fraksiyonları ayrılıp kalan katı kısım 25 ml metilen klorid ile çözülmüş ve kantifikasyonu HPLC ile yapılmıştır. Böylelikle her izolatın aflatoksin üretme kabiliyetleri belirlenmiştir. Aflatoksin konsantrasyonları (ppb) on tabanında logaritmik transformasyona tabi tutulmuş, sonuçlar bu değerler üzerinden tartışılmıştır. Propagül sayısı ile aflatoksin üretim miktarları arasındaki ilişki ikili Pearson'un korelasyon katsayısının JMP istatistik paket programı kullanılarak hesaplanması ile belirlenmiştir.

BULGULAR

Türlerin Belirlenmesi

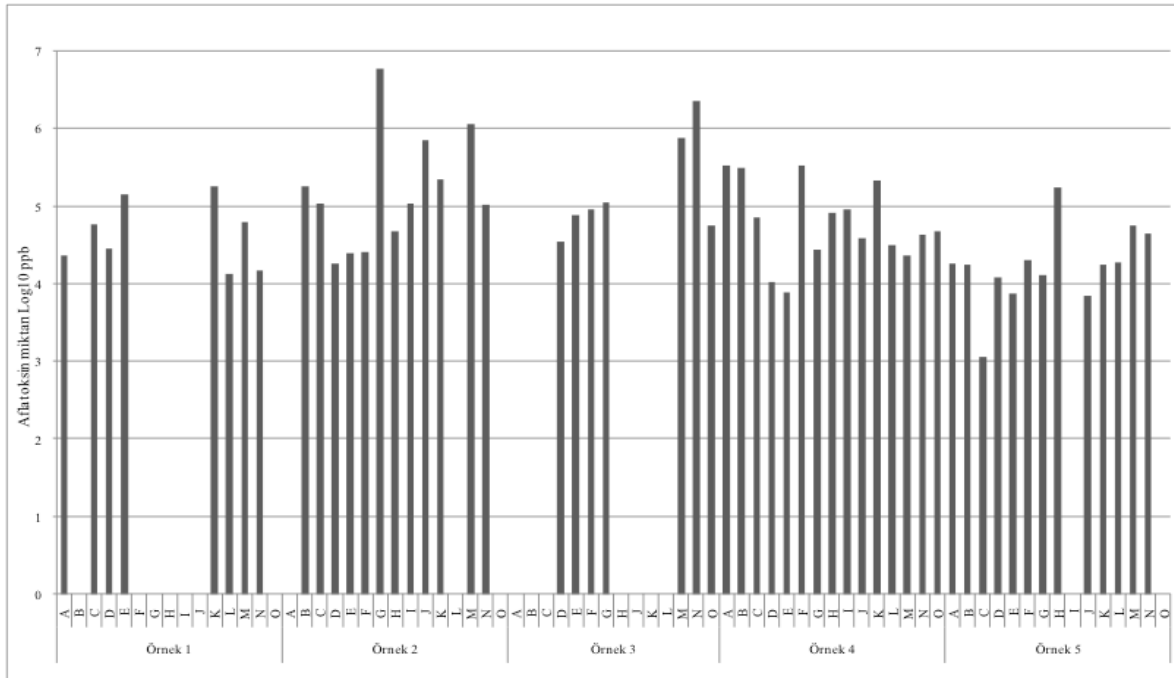
Alınan 15 örnekten 12'sinden *A. flavus* türü izole edilebilmiştir. TP1 ve TP15'de %7 oranında *A. tamari*, TP 13'de ise %25 oranında *A. parasiticus* ve %13 oranında *A. tamari*'ye rastlanmıştır. TP2, TP8 ve TP10 dışındaki örneklerde *A. flavus* türünün S ırkına rastlanmamıştır: Bu örneklerdeki S ırkı izolatlarının oranı ise %7 olarak belirlenmiştir. Toplam 212 örnekten elde edilen *Aspergillus* türleri göz önüne alındığına yaklaşık %2'sinin *A. parasiticus*, %2'sinin *A. tamari* ve %97'sinin *A. flavus* olduğu söylenebilir. *A. flavus* biber örneklerinde en yaygın olarak görülen *Aspergillus* türü olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte kırmızı biber örneklerinde *A. flavus* türünün S ırkının nadir olarak görüldüğü L ırkının büyük çoğunluğu teşkil ettiği görülmektedir. TP4 örneği en fazla propagül içeren örnek olurken TP13'de ise sadece bir propagüle rastlanmıştır.

1.3. *A. flavus* izolatlarının Aflatoksin üretme potansiyelleri

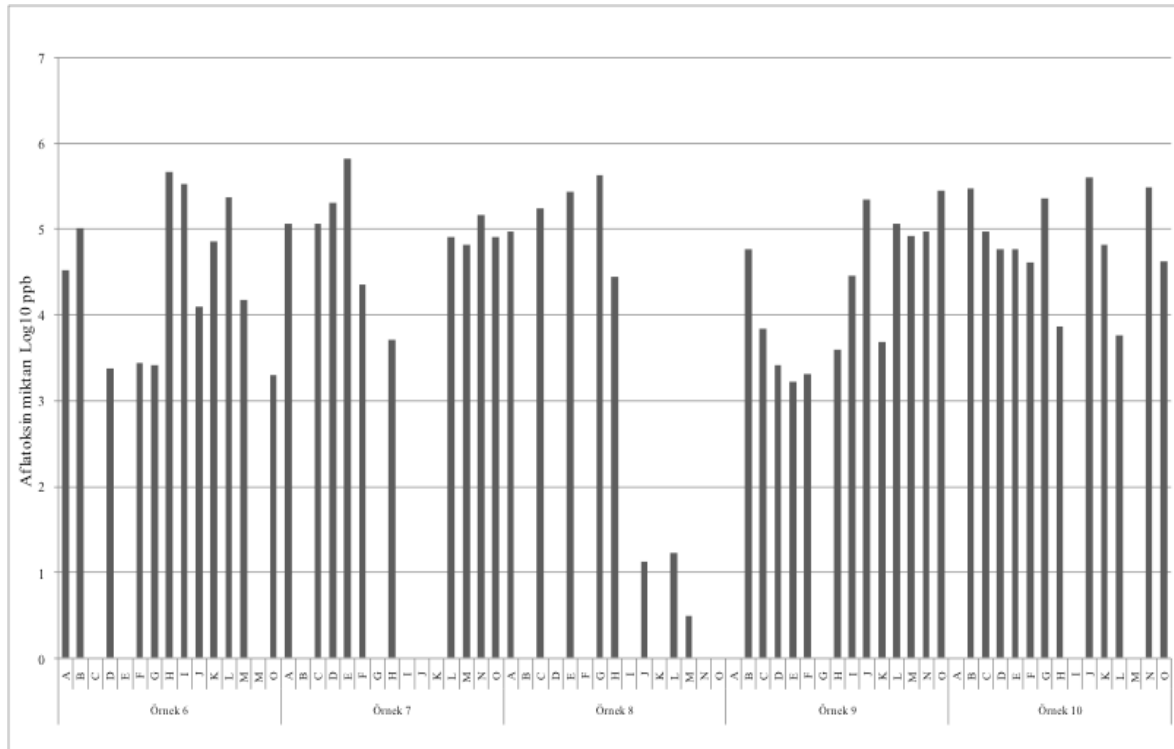
Kırmızı biber örneklerinden izole edilen *A. flavus* izolatlarının aflatoksin üretme yetenekleri belirlenmiştir. Toplam 212 *A. flavus* izolatının 63'ü uygun koşullar altında toksin üretmemiştir. Örnekler arasında en az toksin üretmeyen izolatın bulunduğu örnek 3/15 oranı ile üç numaralı örnektir. Dört numaralı örnekten izole edilen izolatların tamamı toksin üretim potansiyeline sahiptir. En yüksek toksin üreten izolat 6,7 Log₁₀ ppb ile 2G izolatı, en az toksin üreten izolat ise 3,2 Log₁₀ ppb ile 5C izolatı (Şekil 1: Örnek 2 G ve Örnek 5 C sütunu) olmuştur. Örneklerdeki propagül sayısı ile toksin üretmeyen izolat arasında istatistiksel anlamda ilişki bulunamamıştır (r 0,41; P değeri 0,12).

Tablo 1. Biber örneklerinde aflatoksin üreten fungusların izolat sayıları, spor sayıları ile tür ve ırk oranları

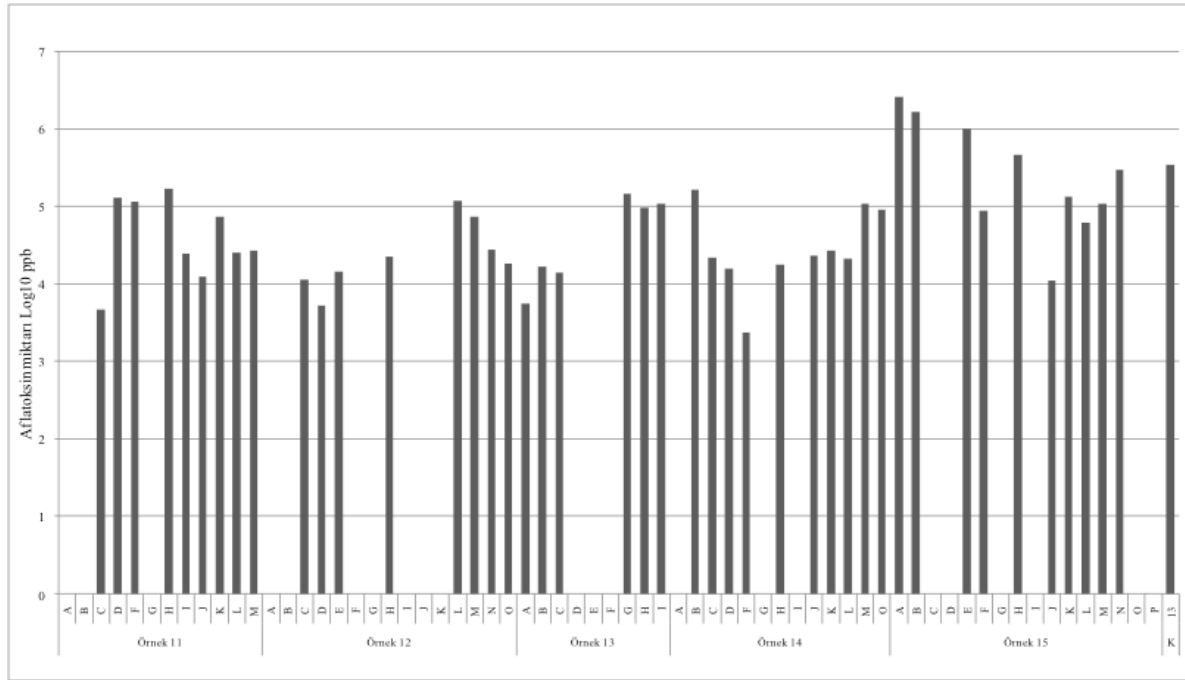
Örnek	<i>A. parasiticus</i> (%)	<i>A. tamari</i> (%)	<i>A. flavus</i> (%)	<i>A. flavus</i> izolat sayısı	S ırkı oranı (%)	Toksin üretmeyen <i>A. flavus</i> izolat sayısı	Spor sayısı/g
TP1	0	7	93	15	0	7	4
TP2	0	0	100	15	7	3	2.634.038
TP3	0	0	100	15	0	7	10.637
TP4	0	0	100	14	0	0	3.034.410
TP5	0	0	100	15	0	2	94.440
TP6	0	0	100	15	0	3	184.592
TP7	0	0	100	15	0	5	190.128
TP8	0	0	100	15	7	10	120.820
TP9	0	0	100	15	0	1	32.164
TP10	0	0	100	15	7	3	100.990
TP11	0	0	100	11	0	3	3
TP12	0	0	100	15	0	7	57.304
TP13	25	13	63	8	0	3	1
TP14	0	0	100	14	0	3	19
TP15	0	7	93	15	0	6	67.943
Toplam				212		63	



Şekil 1. Kırmızı biber örneklerinden izole edilen *Aspergillus flavus* izolatlarının A&M sıvı ortamında ürettikleri toksin miktarı (Log_{10} ppb)



Şekil 1'in devamı. Kırmızı biber örneklerinden izole edilen *Aspergillus flavus* izolatlarının A&M sıvı ortamında ürettikleri toksin miktarı (Log_{10} ppb)



Şekil 1'in devamı. Kırmızı biber örneklerinden izole edilen *Aspergillus flavus* izolatlarının A&M sıvı ortamında ürettikleri toksin miktarı (Log₁₀ ppb)

TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünyada kırmızı biberde aflatoxin kontaminasyonu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (10, 12). Türkiye'de de kırmızı biberdeki aflatoxin sorunu önemli gıda risklerinden görülmüştür (6,14,29). Kırmızı biberdeki aflatoxin sorununu diğer gıdalarda olduğu gibi tek bir yöntem kullanarak çözmek mümkün gözükmemektedir. Hasat öncesi ve hasat sonrası biyotik ve abiyotik birçok faktörün etkisi ile kırmızı biberde oluşan aflatoxin oluşumunun engellenmesinin yollarından biri de toksin üretmeyen izolatların toksin üreten izolatlarla rekabet etmesidir. Mısır, yerfıstığı, pamuk gibi birçok üründe kontaminasyona sebep olan *A. flavus* türü toksin üreten ve üretmeyen izolatlarla sahiptir (16- 18). Bu çalışmada kırmızı biberde toksin üretme kabiliyetine sahip olmayan *A. flavus* türlerinin varlığı ortaya konmuştur.

Aflatoxin üreten *A. parasiticus*, *A. tamari* ve *A. flavus* türlerinin kırmızı biber örneklerinde yaygın

olarak bulunduğu belirlenmiştir. *A. flavus* türünün baskın tür olduğu ancak L ırklarının S ırklarına göre daha yaygın olduğu görülmüştür. Çalışmada izolatlar toksin üretebilecekleri en uygun ortamlarda geliştirilmişlerdir. Toplam 15 örnekten izole edilen 212 izolatın 63'ünün toksin üretmediği görülmüştür. Toksin üreten izolatlar arasında da farklılıklar görülmüş, izolatların toksin üretme kabiliyetinin 6,7 Log₁₀ ppb ile 3,2 Log₁₀ ppb arasında değiştiği belirlenmiştir. Doğal koşullar altında toksin üretebilen izolatların toksin üretme kabiliyetlerinde azalmalar görülmesi beklenebilir. Bununla birlikte uygun ortamlarda toksin üretmeyen izolatların doğal koşullar altında da toksin üretmeyeceği düşünülmektedir.

A. flavus türünün bulaştığı üründeki lipid miktarının yüksekliği türün gelişimini hızlandırmakta, üründeki şeker varlığı ise gelişimi ve aflatoxin oluşumunu tetiklemektedir. Bununla birlikte bitki bünyesinde türün gelişimini ve aflatoxin

oluşumunu engelleyen inhibitörler de bulunabilir. (30, 31). Bu nedenle her türün aflatoksin oluşumuna tepkisi farklılıklar gösterebilir. Aynı türün farklı genotiplerinin de aflatoksin oluşumuna farklı tepkiler göstermesi beklenebilir. Alınan örneklerdeki spor sayısının fazla olması ancak spor sayısı ile aflatoksin oluşumu arasında ilişkinin bulunmaması izolatların toksin üretim kabiliyetine veya bulaştığı genotipin tepkisine bağlıdır. Biber genotiplerinin etmene direnç göstermesi veya etmenin genotipler arasında seçim yapması söz konusudur Aflatoksin oluşumunun önlenmesi ile ilgili diğer bir yöntem ise etmene dayanıklı biber genotiplerinin geliştirilmesi olabilir. Bu nedenle farklı toksin üretme kabiliyetine sahip izolatların biber genotiplerinin üzerindeki etkilerinin

araştırılması kırmızı biberde aflatoksin oluşumunun önlenmesi açısından önemlidir. Dayanıklı genotipler bütün bitki türlerinde abiyotik ve biyotik etmenlerle mücadele yöntemlerine kolaylıkla entegre olabilmektedir. Farklı ürünlerde aflatoksinle mücadelede dayanıklı genotiplerin kullanılması hasat öncesi önlemler arasında yer almaktadır (25, 32). Aflatoksin sorunu ile gündeme gelen önemli türlerden mısırdaki toksin oluşumuna dayanım gösteren hatlar belirlenmiştir (33,34). Bu nedenle kırmızı biberde aflatoksinle mücadelede toksin üretmeyen izolatların rekabet gücünden faydalanmakla birlikte etmene dayanıklı kırmızı biber genotiplerinin geliştirilmesi faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Girgin G, Başaran N, Şahin G. Mycotoxins in Turkey and the world. Turk Hij Den Biyol Derg, 2001; 58(3): 97-118.
2. Anonymous, 2012. FAOSTAT Database. <http://faostat3.fao.org/> Erişim Tarihi:26.12.2013
3. Karapınar M, Tuncel G. Perakende satılan bazı toz baharatların mikrobiyolojik kaliteleri. E.Ü. Mühendislik Fakültesi Dergisi, 1986; 4: 27-36.
4. Kıvanç M, Sert S. Erzurum'da perakende satış mağazalarındaki bazı öğütülmüş baharatların mikrobiyel mikrobiyal kalitesi. Doğa TÜBİTAK Tarım Ormanlık, 1989; 13: 316-325.
5. Tekinşen O C, Sarıgöl C. Elazığ yöresinde tüketime sunulan bazı öğütülmüş baharatın mikrobiyal florası. F. Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi, 1982; 7: 151-162.
6. Ağaoğlu S. Van ilinde açıkta satılan kırmızı pul biberlerde aflatoksin B1 varlığının araştırılması. Van Tıp Dergisi, 1999; Cilt: 6, Sayı: (4): 28-30.

7. Demircioğlu S, Filazi A. Türkiye’de Üretilen kırmızı biberlerde aflatoksin kalıntılarının araştırılması. Vet Hekim Der Derg, 2010; 81(2): 63-6.
8. Kanbur M, Liman BC, Eraslan G, Altınordulu Ş. Kayseri’de tüketime sunulan kırmızı biberlerde aflatoksin B1’in Enzim İmmunoassay (EIA) ile kantitatif analizi Erciyes Üniv Vet Fak Derg, 2006; 3(1) 21-4.
9. Taydaş EE, Aşkın O. Kırmızı biberlerde aflatoksin oluşumu. Gıda, 1995; 20 (1): 3-8.
10. Bilgrami KS, Sinha KK. Aflatoxin in India: I In. Aflatoxin in Maize. A Proceedings of the Workshop of CIMMYT. EL Batan, Mexico, 1986; pp. 349357.
11. Iqbal SZ, Paterson RR, Bhatti IA, Asi MR, Sheikh MA, Asi MR, et al. Aflatoxin B1 in chilies from the Punjab region, Pakistan. Mycotoxin Res, 2010; 26 (3): 205-9.
12. Makun HA, Mailafiya CS, Saidi AA, Onwuike BC, Onwubiko MU. A preliminary survey of aflatoxin in fresh and dried vegetables in Minna, Nigeria. Afr J Food Sci Tech, 2012; 3(10): 268-72.
13. Kantarcioğlu S, Yücel A. Cerrahpaşa *Aspergillus* cinsi mantarlar ve invaziv aspergilloz: Mikoloji, patogenezi, laboratuvar tanımı, antifungallere direnç ve duyarlılık deneyleri. Tıp Derg, 2003; 34 (3): 140-57.
14. Erdoğan Ö. Kahramanmaraş’ta satılan acı kırmızı pul biberin bazı mikrobiyolojik özellikleri. Fen Müh Derg, 2000; 3(2): 108.
15. Cotty PJ, Bayman P. Competitive exclusion of a toxigenic strain of *Aspergillus flavus* by an atoxigenic strain. Phytopathology, 1993; 83: 1283-87.
16. Dorner JW, Cole RJ, Blankenship PD. Effect of inoculum rate of biological control agents on preharvest aflatoxin contamination of peanuts. Biological Control, 1998; 12(3), 171-6.
17. Cotty PJ. Comparison of four media for the isolation of *Aspergillus flavus* group fungi. Mycopathologia. 1994; 125: 157-62.
18. Brown RL, Cotty PJ, Cleveland TE, Widstrom NW. The living embryo influences accumulation of aflatoxin in maize kernels. J Food Prot, 1993; 56: 967-71.
19. Cotty PJ. Aflatoxin producing potential of communities of *Aspergillus* section Flavi from cotton producing areas in the United States. Mycol Res, 1997; 101(6): 698-704.
20. Cotty PJ, Lee LS. Aflatoxin contamination of cottonseed: Comparison of pink bollworm damaged and undamaged bolls. Trop Sci, 1989; 29: 273-7.
21. Egel DS, Cotty PJ, Elias KS. Relationships among isolates of *Aspergillus* section Flavi which vary in aflatoxin production. Phytopathology, 1994; 84: 906-12.
22. Horn BW, Dorner JW. Regional differences in production of aflatoxin B1 and cyclopiazonic acid by soil isolates of *Aspergillus flavus* along a transect within the United States. Appl Environ Microbiol, 1999; 65 1444-9.
23. Cardwell KF, Cotty PJ. Distribution of *Aspergillus* section Flavi among field soils from the four agroecological zones of the Republic of Bénin, West Africa. Plant Dis, 2002; 86: 434-9.
24. Antilla L, Cotty PJ. The ARS-ACRPC partnership to control aflatoxin in Arizona cotton: current status. Mycopathologia, 2002; 155: 64.
25. Cleveland TE, Dowd PF, Desjardins AE, Bhatnagar D, Cotty PJ. United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service research on pre-harvest prevention of mycotoxins and mycotoxigenic fungi in US crops. Pest Manage Sci, 2003; 59: 629-42.

26. Cotty PJ, Howell DR, Sobek EA. The EPA approved experimental use program for *Aspergillus flavus* AF36. In JF Robens, & TE Cleveland (Eds.), Aflatoxin Elimination Workshop. 1996; October (p. 3).
27. Boyd ML, Cotty PJ. *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination of leguminous trees of the Sonoran Desert in Arizona. *Phytopathology*, 2001; 91, 913-9.
28. Abye J, Mateles RI. Incorporation of labeled compounds into aflatoxins. *Biochim Biophys Acta*, 1964; 86:418- 20.
29. Yıldırım T, Tanrıseven A, Özkaya Ş. Bursa ve Sakarya kırmızı biberlerinde aflatoxin çalışması. *Gıda Teknol.* . 1997; 2 (6) 60-3.
30. Mellon JE, Cotty PJ, Dowd MK. Influence of lipids with and without other cottonseed reserve materials on aflatoxin B1 production by *Aspergillus flavus*. *J Agric Food Chem*, 2000; 48:3611-15.
31. Mellon JE, Cotty PJ, Godshall MA, Roberts E. Demonstration of aflatoxin inhibitory activity in a cotton seed coat xylan. *Appl Environ Microbiol*, 1995; 61:4409-12.
32. Bhatnagar D, Rajasekaran K, Cary JW, Brown RL, Yu J, Cleveland TE. Molecular approaches to development of resistance to preharvest aflatoxin contamination. In *Mycotoxins: Detection methods, management, public health and agricultural trade*; CABI (CAB International): Cambridge, MA, USA, 2008; pp. 257-76.
33. Brown RL, Chen ZY, Menkir A, Cleveland TE. Proteomics to identify resistance factors in corn-a review. *Mycotoxin Res.* 2006; 22: 22-6.
34. Menkir A, Brown RL, Bandyopadhyay R, Cleveland TE. Registration of six tropical maize germplasm lines with resistance to aflatoxin contamination. *J Plant Regist*, 2008; 2: 246-50.

Antibiotic resistance rates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from a university-affiliated hospital in North Cyprus

Kuzey Kıbrıs'taki bir üniversite hastanesinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae* bakterilerinin antibiyotik direnç oranları

Emrah RUH¹, Umut GAZİ¹, Meryem GÜVENİR², Kaya SÜER³, Nedim ÇAKIR³

ABSTRACT

Objective: Infections caused by resistant gram-negative bacteria to antimicrobials occur at increasing rates. Therefore, routine screening of resistance patterns is crucial for treatment approaches using proper antibiotics. Nevertheless, there is not enough data with respect to antibiotic resistance profiles in North Cyprus. This study was conducted in order to investigate the resistance rates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* which were isolated from the Near East University (NEU) Hospital, North Cyprus.

Method: It was included in this study *P. aeruginosa*, *A. baumannii* and *K. pneumoniae* which were isolated in the NEU Hospital Clinical Microbiology Laboratory between 01 August 2010 and 31 December 2014. Identification and susceptibility tests were performed by using the BD Phoenix 100 system (software version 6.01A). The antimicrobial susceptibility test results were determined according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines, and the resistance rates of bacterial isolates to antibiotics were examined retrospectively.

Results: It was evaluated that the antibiotic resistance rates of 186 *P. aeruginosa*, 61 *A. baumannii*, and 204 *K. pneumoniae* strains which were isolated

ÖZET

Amaç: Antimikrobiyallere dirençli Gram-negatif bakterilere bağlı gelişen enfeksiyonlar gittikçe artan oranlarda görülmektedir. Bu nedenle direnç paternlerinin rutin olarak taranması tedavide uygun antibiyotik verilmesi için önemlidir. Ancak, Kuzey Kıbrıs'taki antibiyotik direnç profiline ilişkin yeterli veri mevcut değildir. Bu çalışma Kuzey Kıbrıs'taki Yakın Doğu Üniversitesi (YDÜ) Hastanesi'nde izole edilen *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae* bakterilerindeki direnç oranlarının araştırılması amacıyla yapılmıştır.

Yöntem: YDÜ Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 01.08.2010 ve 31.12.2014 tarihleri arasında izole edilen *P. aeruginosa*, *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* bakterileri bu çalışmaya dâhil edilmiştir. Tanımlama ve duyarlılık testleri BD Phoenix 100 sistemi (6.01A yazılım programı) kullanılarak yapılmıştır. Antimikrobiyal duyarlılık test sonuçları Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kılavuzuna göre belirlenmiş ve bakteri izolatlarının antibiyotiklere direnç oranları retrospektif olarak incelenmiştir.

Bulgular: YDÜ Hastanesi'nde Ağustos 2010 ve Aralık 2014 tarihleri arasında izole edilen 186 *P. aeruginosa*, 61 *A. baumannii*, ve 204 *K. pneumoniae*

¹Near East University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology and Clinical Microbiology, Nicosia, TRNC

²Near East University, Vocational School of Health Services, Nicosia, TRNC

³Near East University Faculty of Medicine, Department of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Nicosia, TRNC



İletişim / Corresponding Author : Emrah RUH

Near East University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology and Clinical Microbiology, Nicosia, TRNC Tel : +90 533 869 47 54 E-posta / E-mail : emrahruh@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 09.03.2016
Kabul Tarihi / Accepted : 26.05.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.82653

Ruh E, Gazi U, Guvenir M, Suer K, Cakir N. Antibiotic resistance rates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from a university-affiliated hospital in North Cyprus Turk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(4): 333-344

between August 2010 and December 2014 at the NEU Hospital. *P. aeruginosa* isolates were mostly resistant to aztreonam (42.9%), ceftazidime (19.5%), levofloxacin (20.2%) and ciprofloxacin (18.8%). In contrary, resistance rates for imipenem and meropenem were lower (11.8% and 6.5%, respectively). *A. baumannii* displayed high resistance (32.8%-92.7%) to most of the antibiotics tested, while the resistance rate for colistin was 5.1%. The highest antimicrobial resistance rates in *K. pneumoniae* isolates were detected in ampicillin-sulbactam (39.9%), cefazolin (35.3%), cefuroxime (34.2%) and tetracycline (30.8%); while the lowest rates of resistance were recorded for ertapenem (4.6%), imipenem (0.0%), meropenem (1.0%) and amikacin (0.0%). Besides, extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) positive results were obtained among 16.7% of *K. pneumoniae* isolates.

Conclusion: According to literature review, this is the first study that evaluated the antimicrobial resistance rates of *P. aeruginosa*, *A. baumannii* and *K. pneumoniae* isolates in a centre in North Cyprus. Among the antibiotics tested, particularly the carbapenem resistance in *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae* strains, and colistin resistance in *A. baumannii* were detected at lower rates in comparison to the other studies where high rates of resistance were documented. Nevertheless, the results of this study indicate that antibiotic resistance in our hospital cannot be ignored, and the test results should be monitored routinely. By conducting multi-centered studies, more comprehensive data on antimicrobial resistance patterns and the underlying genetic mechanisms should be documented in North Cyprus.

Key Words: drug resistance, North Cyprus *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*

suşunun antibiyotik direnç oranları değerlendirilmiştir. *P. aeruginosa* izolatlarında en yüksek direnç oranları aztreonam (%42,9), seftazidim (%19,5), levofloksasin (%20,2) ve siprofloksasin (%18,8) antibiyotiklerinde görülmüştür. İmipenem ve meropenem için ise daha düşük direnç oranları (sırasıyla %11,8 ve %6,5) saptanmıştır. *A. baumannii* izolatlarının, test edilen antibiyotiklerin çoğuna karşı yüksek seviyede dirençli (%32,8-%92,7) olduğu görülmüş; bu izolatlar arasındaki kolistin direnci ise %5,1 olarak belirlenmiştir. *K. pneumoniae* izolatlarında en yüksek direnç oranları ampisilinsulbaktam (%39,9), sefazolin (%35,3), sefuroksim (%34,2) ve tetrasiklin (%30,8) antibiyotiklerinde; en düşük oranlar ise ertapenem (%4,6), imipenem (%0,0), meropenem (%1,0) ve amikasin (%0,0) antibiyotiklerinde saptanmıştır. Ayrıca, *K. pneumoniae* izolatları arasında %16,7 oranında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) pozitifliği görülmüştür.

Sonuç: Bu çalışma, araştırmalarımıza göre Kuzey Kıbrıs'taki bir merkezde *P. aeruginosa*, *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* izolatlarının antibiyotiklere karşı direnç oranlarını değerlendiren ilk çalışmadır. Çalışmamızda, test edilen antibiyotikler arasında özellikle *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* suşlarında karbapenem direnci; *A. baumannii*'de ise kolistin direnci, yüksek direnç oranlarının bildirildiği diğer çalışmalara göre daha düşük oranlarda bulunmuştur. Ancak, bu çalışmanın bulguları hastanemizde antibiyotik direncinin göz ardı edilmemesi ve test sonuçlarının rutin olarak taranması gerektiğine işaret etmektedir. Çok merkezli çalışmalar yürütülerek Kuzey Kıbrıs'taki antimikrobiyal direnç paternleri ve altta yatan genetik mekanizmalar ile ilgili daha geniş kapsamlı verilerin elde edilmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: ilaç direnci, Kuzey Kıbrıs *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*

INTRODUCTION

Infections developed by antibiotic-resistant Gram-negative bacteria occur at increasing rates. Apart from being difficult to treat, these infections are associated with high morbidity and mortality and pose a threat to the global public health (1).

Due to the presence of outer membrane structure and defense mechanisms such as periplasmic beta-lactamases, Gram-negative bacteria are more resistant to antimicrobial agents than Gram-positive bacteria. This also makes it more difficult to develop

novel antibiotics against Gram-negative bacteria (2).

Pseudomonas aeruginosa is a non-fermenting Gram-negative bacterium which is an opportunistic pathogen (3). This bacterium, which causes nosocomial infections such as pneumonia, urinary tract infection and sepsis, is resistant to many antibiotics including beta-lactams, aminoglycosides and fluoroquinolones (4). Infections caused by multidrug-resistant *P. aeruginosa* are regarded as a serious clinical problem and are seen relatively common (5).

Acinetobacter baumannii is a non-fermenting Gram-negative bacterium and this opportunistic pathogen is generally isolated from the infections in intensive care units (6). *A. baumannii* has been recognised as an important cause of nosocomial infections with high morbidity and mortality rates (7). This bacterium is most commonly encountered in septicemia, pneumonia and urinary tract infections (8). *A. baumannii* is capable of developing resistance against antimicrobial agents, and there has been an increase in the rates of multidrug-resistant isolates in the last decade (6).

Gram-negative bacteria that belong to *Enterobacteriaceae*, are part of the normal intestinal flora and besides, are among the most commonly encountered pathogens in clinical practice. These bacteria can easily be transmitted between individuals and they tend to receive genetic information typically by plasmids and transposons (9). *Klebsiella pneumoniae*, a member of *Enterobacteriaceae*, is an opportunistic pathogen and is involved in septicemia, pneumonia, urinary tract infections and soft tissue infections among hospitalized and immunosuppressed patients. Multidrug-resistance in *K. pneumoniae* is generally caused by the production of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) and carbapenemases. The spread of multidrug-resistant isolates usually results in the failure of antibiotic therapy given for these infections (10).

In order to control the infections caused by resistant Gram-negative bacteria, the risk factors

should be determined, the resistant isolates should be identified, and preventive measures should be taken. Determination of the local antibiotic resistance profiles can guide the options of empirical therapy for the antibiotic-resistant Gram-negative infections (1).

There have been many publications on antimicrobial drug resistance in the literature. However the resistance patterns of *P. aeruginosa*, *A. baumannii* and *K. pneumoniae* strains in North Cyprus remain unclear. For this reason, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* and *K. pneumoniae* isolates which were reported between August 2010 and December 2014 at the Near East University (NEU) Hospital in North Cyprus were included in this study. Therefore, a data on the antibiotic resistance patterns of these important bacteria isolated from the NEU Hospital was obtained in this research.

MATERIAL and METHOD

The present study was conducted at the NEU Hospital Clinical Microbiology Laboratory. The NEU Hospital was established in Nicosia, capital of North Cyprus, in July 2010. During the period of August 2010 and December 2014, the bed capacity of the hospital was 120 and the occupancy rate was 50%. The 12-bed general intensive care unit and six-bed cardiovascular surgery intensive care unit had an occupancy rate of 50%. Bacterial isolates, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* and *K. pneumoniae* which were isolated at the NEU Hospital Clinical Microbiology Laboratory between 01.08.2010 and 31.12.2014 were included in this study. The isolated bacteria were collected from specimens sent by various departments during this time period. Identification of bacterial isolates and the antimicrobial susceptibility testing were performed using the BD Phoenix 100 system (software version 6.01A). The susceptibility test results were determined according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines (11). The presence of ESBL among *K. pneumoniae* isolates was also evaluated according to the test

results obtained from the Phoenix instrument. Demographic information of the patients, types of clinical specimens bacteria were isolated from, and the antibiotic resistance rates were investigated retrospectively. Repetitive isolates which were recovered from identical specimens of the same patient in a short period of time were excluded from the study. However, repetitive strains isolated over an extended period of time were included in the study. In addition, strains isolated from different specimens of the same patient were also included in the study. The data obtained were analyzed using the Microsoft Excel software.

RESULTS

Two hundred and twenty-four *P. aeruginosa*, 79 *A. baumannii* and 229 *K. pneumoniae* strains were isolated at the NEU Hospital Clinical Microbiology Laboratory between 01.08.2010 and 31.12.2014. The repetitive isolates recovered in a short period

of time were excluded from the analysis, thus 186 *P. aeruginosa*, 61 *A. baumannii* and 204 *K. pneumoniae* strains were evaluated in the study. Distribution of the bacterial isolates among the patient specimens is given in the Table 1.

Demographic information of the patients and the antibiotic resistance rates of *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* and *A. baumannii* were identified. The findings were stated individually for each pathogen.

One hundred and eighty-six *P. aeruginosa* isolates were detected from 123 patients. Distribution of the patients according to the age groups were nine (7.3%) for age zero; 14 (11.4%) for age 1-14; six (4.9%) for age 15-24; 12 (9.8%) for age 25-44; 17 (13.8%) for age 45-64; and 65 (52.8%) for age 65+. Numbers of female and male patients were noted to be 54 (43.9%) and 69 (56.1%), respectively.

The antibiotic resistance rates of 186 *P. aeruginosa* isolates were evaluated. The highest

Table 1. Distribution of *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* and *A. baumannii* isolates according to the patient specimens (NEU Hospital 2010-2014).

Specimen	<i>P. aeruginosa</i>		<i>A. baumannii</i>		<i>K. pneumoniae</i>	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Wound material	34	18.3	7	11.5	9	4.4
Sputum	25	13.4	10	16.4	18	8.8
Cerebrospinal fluid	8	4.3	-	-	-	-
Deep tracheal aspirate	30	16.1	24	39.3	16	7.8
Urine	57	30.6	9	14.8	122	59.8
Blood	15	8.1	3	4.9	24	11.8
Catheter	9	4.8	6	9.8	10	4.9
Other	8	4.3	2	3.3	5	2.5
Total	186	100.0	61	100.0	204	100.0

resistance rates were recorded against aztreonam (42.9%), ceftazidime (19.5%), levofloxacin (20.2%) and ciprofloxacin (18.8%). However, resistance rates for imipenem (11.8%) and meropenem (6.5%) were found to be lower (Table 2).

Sixty-one *A. baumannii* isolates were reported from 40 patients. Distribution of the patients according to the age groups were three (7.5%) for age 1-14; five (12.5%) for age 15-24; five (12.5%) for age 25-44; 11 (27.5%) for age 45-64; and 16 (40.0%) for age 65+. There was no patient (0.0%) in the age group zero. Number of female patients was 17 (42.5%), and number of male patients was 23 (57.5%).

Antimicrobial resistance rates of 61 *A. baumannii* isolates were assessed. High levels of resistance (32.8%-92.7%) were detected against most of the antibiotics tested. Colistin resistance among *A. baumannii* isolates was noted to be 5.1% (Table 3).

In this study, 204 *K. pneumoniae* strains were isolated from 155 patients. Distribution of the patients according to the age groups were 18 (11.6%) for age zero; seven (4.5%) for age 1-14; six (3.9%) for age 15-24; 25 (16.1%) for age 25-44; 31 (20.0%) for age 45-64; and 68 (43.9%) for age 65+. Numbers of female and male patients were found to be 88 (56.8%) and 67 (43.2%), respectively.

Table 2. Antimicrobial resistance rates of *P. aeruginosa* isolates (NEU Hospital 2010-2014).

The antibiotics tested	P. aeruginosa (n: 186)		
	Number of the isolates tested	Number of the resistant isolates	
		n	(%)
Piperacillin-tazobactam	185	12	6.5
Ticarcillin-clavulanic acid	86	8	9.3
Ceftazidime	185	36	19.5
Cefepime	184	9	4.9
Aztreonam	184	79	42.9
Imipenem	186	22	11.8
Meropenem	184	12	6.5
Colistin	128	14	10.9
Gentamicin	185	23	12.4
Amikacin	185	13	7.0
Ciprofloxacin	186	35	18.8
Levofloxacin	129	26	20.2
Norfloxacin	57	8	14.0

Table 3. Antimicrobial resistance rates of *A. baumannii* isolates (NEU Hospital 2010-2014).

The antibiotics tested	<i>A. baumannii</i> (n: 61)		
	Number of the isolates tested	Number of the resistant isolates	
		n	(%)
Ampicillin-sulbactam	61	8	13.1
Piperacillin-tazobactam	61	46	75.4
Ceftazidime	61	48	78.7
Cefepime	61	20	32.8
Cefotaxime	55	51	92.7
Imipenem	61	45	73.8
Meropenem	61	45	73.8
Colistin	59	3	5.1
Gentamicin	61	44	72.1
Amikacin	61	40	65.6
Tetracycline	55	42	76.4
Ciprofloxacin	61	47	77.0
Levofloxacin	59	44	74.6
Trimethoprim-sulfamethoxazole	61	44	72.1

Resistance rates of 204 *K. pneumoniae* against antibiotics were analyzed. The resistance levels of these isolates varied among different antibiotics. The highest rates of resistance in *K. pneumoniae* isolates were detected against ampicillin-sulbactam (39.9%), cefazolin (35.3%), cefuroxime (34.2%) and tetracycline (30.8%). The lowest rates of resistance were recorded for ertapenem (4.6%), imipenem (0.0%), meropenem (1.0%) and amikacin (0.0%) (Table 4). Besides, 34 (16.7%) of 204 *K. pneumoniae* isolates were noted to be positive for ESBL.

DISCUSSION

Infections caused by antimicrobial-resistant microorganisms lead to higher mortality, morbidity and treatment costs than those of antibiotic-susceptible pathogens (12). Besides, increase in the antimicrobial resistance can lead to ineffectiveness of the antibiotics used for the empirical therapy (2). For this reason, countries should establish data on their local antibiotic resistance profiles.

P. aeruginosa, *A. baumannii* and *K. pneumoniae* are Gram-negative bacteria which cause nosocomial

Table 4. Antimicrobial resistance rates of *K. pneumoniae* isolates (NEU Hospital 2010-2014).

The antibiotics tested	<i>K. pneumoniae</i> (n: 204)		
	Number of the isolates tested	Number of the resistant isolates	
		n	(%)
Amoxicillin-clavulanic acid	111	33	29.7
Ampicillin-sulbactam	203	81	39.9
Piperacillin-tazobactam	203	22	10.8
Ticarcillin-clavulanic acid	69	16	23.2
Cefazolin	201	71	35.3
Cefepime	203	44	21.7
Cefotaxime	26	4	15.4
Ceftriaxone	170	38	22.4
Cefoxitin	203	26	12.8
Cefuroxime	111	38	34.2
Ceftazidime	204	43	21.1
Aztreonam	203	44	21.7
Ertapenem	197	9	4.6
Imipenem	203	0	0.0
Meropenem	204	2	1.0
Gentamicin	204	29	14.2
Amikacin	204	0	0.0
Tetracycline	26	8	30.8
Ciprofloxacin	204	41	20.1
Levofloxacin	95	16	16.8
Norfloxacin	111	20	18.0
Trimethoprim-sulfamethoxazole	204	63	30.9

infections (2). The other significant feature of these bacteria is their ability to develop resistance against antibiotics (3,10,13). In North Cyprus, antibiotic resistance patterns of *P. aeruginosa*, *A. baumannii* and *K. pneumoniae* isolates remain unclear. Therefore, the findings of these bacteria isolated from the NEU Hospital between August 2010 and December 2014 were analyzed retrospectively. In this period, 186 *P. aeruginosa* from 123 patients, 61 *A. baumannii* from 40 patients, and 204 *K. pneumoniae* from 155 patients were reported.

Demographic information of the patients revealed that, the pathogens in this study were isolated most commonly from the patients aged 65 and over. The prevalence of *P. aeruginosa*, *A. baumannii* and *K. pneumoniae* in the age group 65+ was 52.8%, 40.0% and 43.9%, respectively. The reason of greater rates of infection in this age group can be explained by the weakened immune response in the elderly people which results in increased sensitivity against the pathogens (14). The proportions of female and male patients infected with *P. aeruginosa* were 43.9%-56.1%; while the percentages for *A. baumannii* were 42.5%-57.5%, respectively. These findings were similar for both of the pathogens. Among the patients infected with *K. pneumoniae*, the rates of female and male patients were 56.8% and 43.2%, respectively.

In our study, the patient specimens used for the isolation of these pathogens were also analyzed (Table 1). *P. aeruginosa* was mostly isolated from the urine samples (30.6%), which was followed by wound material (18.3%), deep tracheal aspirate (DTA) (16.1%) and sputum (13.4%) samples. This pathogen was also isolated from blood samples (8.1%), and these findings were consistent with the infections where *P. aeruginosa* is commonly encountered (4,15). The specimens which *A. baumannii* was mostly isolated were DTA (39.3%), sputum (16.4%), urine (14.8%) and wound material (11.5%). These findings were compatible with the

previous studies where *A. baumannii* was stated to be isolated most commonly from the respiratory specimens followed by wound materials (16). In our study, *K. pneumoniae* was most frequently detected in urine samples (59.8%). This is not surprising since this pathogen is the second most common cause of community-acquired urinary tract infections developed by *Enterobacteriaceae* (17). The other samples where *K. pneumoniae* isolates were reported were blood (11.8%), sputum (8.8%) and DTA (7.8%), and these findings were consistent with the infections caused by this pathogen (10).

In the study, antimicrobial resistance patterns of *P. aeruginosa*, *A. baumannii* and *K. pneumoniae* isolates which were reported at the NEU Hospital between August 2010 and December 2014 were analyzed.

P. aeruginosa is intrinsically resistant to many antibiotics due to the presence of outer-membrane, efflux-pumps and intracellular mechanisms of antimicrobial inactivation. Although antibiotics such as carbapenems were introduced against *P. aeruginosa*, this organism can easily develop resistance as a result of mutations in the chromosome and acquisition of extracellular genes (3).

Data obtained in this study revealed that, the highest resistance in *P. aeruginosa* isolates was against aztreonam (42.9%) (Table 2). This can be explained by the emergence of ESBL and/or AmpC beta-lactamase producing strains which can hydrolyse aztreonam, cephalosporins and penicillins. Aztreonam resistance in *P. aeruginosa* is an obstacle for the administration of appropriate therapy. Many studies from Turkey, Europe and other countries reported high resistance rates (32.0%-52.0%) against aztreonam (18-20).

In the present study, aminoglycoside (gentamicin: 12.4%; amikacin 7.0%), fluoroquinolone (ciprofloxacin: 18.8%; levofloxacin: 20.2%; norfloxacin: 14.0%) and ceftazidime (19.5%) resistance among *P. aeruginosa* isolates were

found similar with the rates documented in the antimicrobial resistance report of South Cyprus in 2010 (21). The only difference between the findings was observed for the carbapenem antibiotics. Resistance rate in the 2010 report was declared to be 29.2%, while the percentages for imipenem and meropenem resistance in this study were found 11.8% and 6.5%, respectively (Table 2). In a recent meta-analysis from Turkey, *P. aeruginosa* isolates were reported to have decreased resistance rates to all antibiotics tested, with the exception of cefepime and monobactam, during 2010-2013 in comparison with the period before 2013 (22).

Apart from being intrinsically resistant to many antibiotics, *A. baumannii* has the ability to develop resistance against most antimicrobial agents. Presence of the outer-membrane, alteration of the drug target, enzymatic degradation of the antibiotics, and the efflux-pumps are responsible for the antimicrobial resistance (13).

In our study, *A. baumannii* isolates exhibited high resistance (32.8%-92.7%) against most of the antimicrobial agents tested (Table 3). This finding is consistent with those of many other studies where *A. baumannii* was shown to develop resistance to most of the antibiotics (23-27). In this study, the lowest resistance rates in *A. baumannii* isolates were detected for colistin (5.1%) and ampicillin-sulbactam (13.1%) (Table 3).

Among the antimicrobial agents used for *A. baumannii*, colistin is the most active antibiotic. However, because of increased incidence of colistin resistant *A. baumannii* isolates, today there is a suspicion regarding the use of this antibiotic against the infections caused by *A. baumannii* (28). Colistin resistance in our study was 5.1%. Nevertheless, this result should be confirmed by alternative methods (11). In the literature, varying rates of colistin resistance (as high as 40.6%) in *A. baumannii* isolates were documented by different countries (29). On the other hand, ampicillin-sulbactam is an alternative

drug for *A. baumannii* infections (30). The resistance rate (13.1%) in this study was much lower than the result (51.6%) obtained from European countries which was published in 2008 (31).

Nearly 10% of the nosocomial infections are developed by *K. pneumoniae*. Multidrug-resistance caused most commonly by ESBLs and carbapenemases in this pathogen generally results in treatment failure (10). ESBLs which belong to Ambler Class A beta-lactamases can hydrolyse monobactams and cephalosporins, but do not affect carbapenems or cephamycins (15). Rate of infections particularly caused by ESBL producing *E. coli* and *K. pneumoniae* has increased (32). On the other hand, carbapenems have been used as the last resort treatment for the infections caused by multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* (33). However, the incidence of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* has risen globally over the last decade. *K. pneumoniae* carbapenemase (KPC) enzymes (for which *K. pneumoniae* isolates are the major sources) are the most frequent cause of antibiotic resistance in carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (34).

Antibiotic resistance rates detected among *K. pneumoniae* in this study were noted to be different from the data of South Cyprus in the 2010 report (21). In that publication, resistance of *K. pneumoniae* against fluoroquinolones, carbapenems and the third-generation cephalosporins were documented as 38.8%, 16.4%, and 34.3% respectively, while the isolates in our study exhibited lower resistance rates for these antibiotics. In our *K. pneumoniae* isolates, ciprofloxacin, levofloxacin and norfloxacin resistance were recorded as 20.1%, 16.8% and 18.0%, respectively. While low levels of resistance were detected for ertapenem and meropenem (4.6% and 1.0%, respectively), none of *K. pneumoniae* isolates (0.0%) were resistant against imipenem. Among the third-generation cephalosporins, prevalence of resistance for cefotaxime, ceftriaxone and ceftazidime were found to be 15.4%, 22.4% and 21.1%,

respectively. Resistance rate of *K. pneumoniae* isolates against azteronam was 21.7% (Table 4). In this study, the data from Phoenix instrument revealed that 34 (16.7%) of 204 *K. pneumoniae* isolates were positive for ESBL. However, this result should be confirmed by alternative methods (35). Yet, our finding is comparable with the data reported from Turkey in 2008. In that study, ESBL prevalence among *Klebsiella* spp. isolated from urine cultures was found to be 12.0% (36).

The antimicrobial resistance report in 2010 indicated that aminoglycoside resistance of *K. pneumoniae* in South Cyprus was 19.4% (21). According to the results of our study, gentamicin resistance among *K. pneumoniae* isolates was found to be 14.2%, while none (0.0%) of these isolates was resistant to amikacin. The highest levels of resistance in *K. pneumoniae* isolates were detected for ampicillin-sulbactam (39.9%), cefazolin (35.3%), cefuroxime (34.2%) and tetracycline (30.8%) (Table 4). Because of the increased incidence of cefazolin resistance, today there is a suspicion regarding the use of this antibiotic against the infections caused by *Enterobacteriaceae* (37). Besides, a study conducted in the USA revealed an increase in the resistance rates of *K. pneumoniae* isolates against antibiotics except for tetracycline between 1998 and 2010 (38).

Our study presented a data on the antimicrobial resistance rates of *P. aeruginosa*, *A. baumannii* and *K. pneumoniae* isolates reported between August 2010 and December 2014 at the NEU Hospital in North Cyprus. These bacteria are clinically important pathogens and investigation of their antimicrobial resistance patterns is crucial. To our knowledge, this is the first study that analyzed the antimicrobial resistance rates of *P. aeruginosa*, *A. baumannii* and *K. pneumoniae* isolates in a centre from North Cyprus. Among the antibiotics tested, particularly the rates of carbapenem resistance in *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae* isolates, and the level of colistin resistance in *A. baumannii* were found to be lower in comparison with the other studies where high rates of resistance were reported. Relatively lower rates of resistance in these bacteria could be a result of implementation of accurate infection control programme and administration of proper antibiotic treatment protocols in our hospital. Yet, the results obtained from this study suggest that antibiotic resistance in our hospital cannot be ignored and the susceptibility test results should be analyzed regularly. By additional multi-centered studies, more comprehensive data on antimicrobial resistance profiles of bacteria and the genetic backgrounds of resistance should be reported from North Cyprus.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was presented as a poster (PS-014) at the 30th ANKEM Congress (May 2015, T.R.N.C.).

REFERENCES

1. Kaye K, Pogue J. Infections caused by resistant Gram-negative bacteria: Epidemiology and Management. *Pharmacotherapy*, 2015; 35(10): 949-62.
2. Livermore DM. Current epidemiology and growing resistance of Gram-negative pathogens. *Korean J Intern Med*, 2012; 27(2): 128-42.
3. Morita Y, Tomida J, Kawamura Y. Responses of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials. *Front Microbiol*, 2014; 4: 422.
4. Lin SP, Liu MF, Lin CF, Shi ZY. Phenotypic detection and polymerase chain reaction screening of extended-spectrum β -lactamases produced by *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *J Microbiol Immunol Infect*, 2012; 45: 200-7.
5. Vitkauskienė A, Skrodenienė E, Dambrauskienė A, Bakšyte G, Macas A, Sakalauskas R. Characteristics of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains in patients with ventilator-associated pneumonia in intensive care units. *Medicina (Kaunas)*, 2011; 47(12): 652-6.
6. Opazo A, Domínguez M, Bello H, Amyes SGB, González-Rocha G. OXA-type carbapenemases in *Acinetobacter baumannii* in South America. *J Infect Dev Ctries*, 2012; 6(4): 311-6.
7. Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *Int J Antimicrob Agents*, 2013; 41: 11-9.
8. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms and epidemiology. *Clin Microbiol Infect*, 2006; 12(9): 826-36.
9. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: Here is the storm! *Trends Mol Med*, 2012; 18(5): 263-72.
10. Eftekhari F, Naseh Z. Extended-spectrum β -lactamase and carbapenemase production among burn and non-burn clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Iran J Microbiol*, 2015; 7(3): 144-9.
11. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement - M100-S24. 2014.
12. Tang SS, Apisarnthanarak A, Hsu LY. Mechanisms of β -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community- and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. *Adv Drug Deliv Rev*, 2014; 78: 3-13.
13. Nowak P, Paluchowska P, Budak A. Distribution of blaOXA genes among carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* nosocomial strains in Poland. *New Microbiol*, 2012; 35(3): 317-25.
14. Gavazzi G, Krause K-H. Ageing and infection. *Lancet Infect Dis*, 2002; 2(11): 659-66.
15. Hakemi Vala M, Hallajzadeh M, Hashemi A, Goudarzi H, Tarhani M, Sattarzadeh Tabrizi M, et al. Detection of Ambler class A, B and D β -lactamases among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from burn patients. *Ann Burns Fire Disasters*, 2014; 27(1): 8-13.
16. Abdalhamid B, Hassan H, Itbaileh A, Shorman M. Characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in a tertiary care hospital in Saudi Arabia. *New Microbiol*, 2014; 37(1): 65-73.
17. Martin D, Fougnot S, Grobost F, Thibaut-Jovelin S, Ballereau F, Gueudet T, et al. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* in community-onset urinary tract infections in France in 2013. *J Infect*, 2016; 72(2): 201-6.
18. Obritsch MD, Fish DN, MacLaren R, Jung R. National surveillance of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from intensive care unit patients from 1993 to 2002. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004; 48(12): 4606-10.
19. Gutiérrez O, Juan C, Cercenado E, Navarro F, Bouza E, Coll P, et al. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Spanish hospitals. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007; 51(12): 4329-35.
20. Santoro DO, Romão CM, Clementino MM. Decreased aztreonam susceptibility among *Pseudomonas aeruginosa* isolates from hospital effluent treatment system and clinical samples. *Int J Environ Health Res*, 2012; 22(6): 560-70.

21. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2010. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). 2011. Stockholm: ECDC.
22. Aykan ŞB, Çiftci İH. Changes in antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolates over the past 11 years in Turkey: a meta-analysis. *Mikrobiyol Bul*, 2015; 49(3): 352-65.
23. Samonis G, Maraki S, Vouloumanou EK, Georgantzi GG, Kofteridis DP, Falagas ME. Antimicrobial susceptibility of non-fermenting Gram-negative isolates to isepamicin in a region with high antibiotic resistance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2012; 31(11): 3191-8.
24. Agodi A, Zarrilli R, Barchitta M, Anzaldi A, Di Popolo A, Mattaliano A, et al. Alert surveillance of intensive care unit-acquired *Acinetobacter* infections in a Sicilian hospital. *Clin Microbiol Infect*, 2006; 12(3): 241-7.
25. Japoni S, Farshad S, Abdi Ali A, Japoni A. Antibacterial Susceptibility Patterns and Cross-Resistance of *Acinetobacter*, Isolated from Hospitalized Patients, Southern Iran. *Iran Red Crescent Med J*, 2011; 13(11): 832-6.
26. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007; 51: 3471-84.
27. Güven T, Yılmaz G, Güner HR, Kaya Kalem A, Eser F, Taşyaran MA. Increasing resistance of nosocomial *Acinetobacter baumannii*: Are we going to be defeated *Turkish J Med Sci*, 2014; 44(1): 73-8.
28. Chen Z, Chen Y, Fang Y, Wang X, Chen Y, Qi Q, et al. Meta-analysis of colistin for the treatment of *Acinetobacter baumannii* infection. *Sci Rep*, 2015; 5(1): 17091.
29. Cai Y, Chai D, Wang R, Liang B, Bai N. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: Clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. *J Antimicrob Chemother*, 2012; 67(7): 1607-15.
30. Betrosian AP, Frantzeskaki F, Xanthaki A, Georgiadis G. High-dose ampicillin-sulbactam as an alternative treatment of late-onset VAP from multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Scand J Infect Dis*, 2007; 39: 38-43.
31. Souli M, Galani I, Giamarellou H. Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe. *Euro Surveill*, 2008; 13(47): pii=19045.
32. Kumar M, Dutta R, Saxena S, Singhal S. Risk Factor Analysis in Clinical Isolates of ESBL and MBL (Including NDM-1) Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* Species in a Tertiary Care Hospital. *J Clin Diagn Res*, 2015; 9(11): DC08-13.
33. Eser OK, Altun Uludağ H, Ergin A, Boral B, Şener B, Haşçelik G. Carbapenem resistance in ESBL positive *Enterobacteriaceae* isolates causing invasive infections. *Mikrobiyol Bul*, 2014; 48(1): 59-69.
34. Falagas ME, Lourida P, Poulidakos P, Rafailidis PI, Tansarli GS. Antibiotic treatment of infections due to carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: systematic evaluation of the available evidence. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014; 58(2): 654-63.
35. Fisher MA, Stamper PD, Hujer KM, Love Z, Croft A, Cohen S, et al. Performance of the Phoenix bacterial identification system compared with disc diffusion methods for identifying extended-spectrum beta-lactamase, AmpC and KPC producers. *J Med Microbiol*, 2009; 58(6): 774-8.
36. Akyar I. Antibiotic resistance rates of extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. strains isolated from urinary tract infections in a private hospital. *Mikrobiyol Bul*, 2008; 42: 713-5.
37. Turnidge JD. Cefazolin and *Enterobacteriaceae*: Rationale for revised susceptibility testing breakpoints. *Clin Infect Dis*, 2011; 52(7): 917-24.
38. Sanchez GV, Master RN, Clark RB, Fyyaz M, Duvvuri P, Ekta G, et al. *Klebsiella pneumoniae* antimicrobial drug resistance, United States, 1998-2010. *Emerg Infect Dis*, 2013; 19(1): 133-6.

Molecular typing and investigation of carbapenemases in carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolates

Karbapenemlere dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında moleküler tiplendirme ve karbapenemazların araştırılması

Nilgün ÖZBEY¹, Müşerref TATMAN-OTKUN²

ABSTRACT

Objective: In this study, it was aimed to investigate the presence of carbapenemases in carbapenem-resistant *A. baumannii* strains and their chromosomal or plasmid origin.

Methods: Of the total 65 *A. baumannii* studied, 66% were isolated from patients in intensive care unit (ICU); most of strains were blood (37%) and lower respiratory tract samples (32%). VITEK2 automated system and disk diffusion tests were used to evaluate antibiotic susceptibilities. In addition, MIC values for carbapenems were determined using M.I.C. evaluator strips. Clonal relationship between the isolates was assessed by AP-PCR, using M13 and DAF4 primers. Carbapenemase genes were screened by multiplex-PCR, and presence of plasmid-borne carbapenemase was investigated.

Results: The The isolates were found to be susceptible to tobramycin, netilmicin, and colistin by 98.5%, 98.5% and 96.9%, respectively. The rates of resistance to other antibiotics were quite high, and resistance was found between 78.5% - 100%. The resistance rates were detected as 100% to ticarcillin, piperacillin, piperacillin+tazobactam, ceftazidime, ceftriaxone, sefepime, imipenem, meropenem, and

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada karbapenem dirençli *A. baumannii*'lerde karbapenemazların varlığı ve bunların kromozomal veya plazmid kaynaklı olduğunun araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Çalışılan 65 *A. baumannii*'nin %66'sı yoğun bakım ünitesi (YBÜ)'ndeki hastalardan, en çok kandan (%37) ve alt solunum yolu örneklerinden (%32) izole edilmiştir. Antibiyotik duyarlılıklarını değerlendirmede VITEK 2 otomatize sistemi ve disk difüzyon testi kullanılmıştır. Ayrıca, karbapenemler için MİK değerleri, MİK değerlendirici stripler kullanılarak belirlenmiştir. İzolatlar arasındaki klonal ilişki M13 ve DAF4 primerleri kullanılarak AP-PZR ile değerlendirilmiştir. Karbapenemaz genleri multipleks-PZR ile taranmış ve plazmit kaynaklı karbapenemaz araştırılmıştır.

Bulgular: İzolatlar tobramisin, netilmisin ve kolistine sırasıyla %98.5, %98.5 ve %96.9 oranında duyarlı bulunmuştur. Diğer antibiyotiklere direnç oranları oldukça yüksek olup %78.5-100.0 arasında saptanmıştır. Tikarsilin, piperasilin, piperasilin+tazobaktam, seftazidim, seftriakson, sefepim, imipenem, meropenem ve siprofloksasin için %100.0; tikarsilin+klavulanik asit, gentamisin,

¹ Bitlis State Hospital, Medical Microbiology Laboratory, Bitlis, Turkey

² Çanakkale Onsekiz Mart University, School Of Medicine, Department Of Medical Microbiology, Çanakkale, Turkey



İletişim / Corresponding Author : Müşerref TATMAN-OTKUN

Çanakkale Onsekiz Mart University, School Of Medicine, Department Of Medical Microbiology, Çanakkale, Turkey Tel : +90 535 355 16 56 E-posta / E-mail : otkun2000@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 09.11.2015
Kabul Tarihi / Accepted : 27.05.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.91489

Özbeç N, Tatman-Ötkun M. Molecular typing and investigation of carbapenemases in carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. Turk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(4): 345-354

ciprofloxacin, 98.5% to ticarcillin+clavulanic acid, gentamicin, levofloxacin, tetracycline, doxycycline, and trimethoprim-sulfamethoxazole, 93.8% to minocycline, 92.3% to amikacin, and 78.5% to ampicillin+sulbactam. In the study, two different patterns were observed by AP-PCR. Chromosomal OXA-23 and OXA-51 carbapenemase enzyme genes positively were found in all isolates. Plasmids were isolated neither of isolates.

Conclusion: Isolates were detected more frequently from hemocultures in ICU. Isolates showed clonal similarity in AP-PCR where M13 and DAF4 primers were used. The presence of the single *Acinetobacter* clone in our hospital suggests that they all originated from the same source. For this reason, it is concluded that universal infection control measures should be taken in consideration to prevent cross-infection by carbapenem resistant isolates.

Key Words: *Acinetobacter baumannii*, oxacillinase, metallo-beta-lactamase, PCR

levofloksasin, tetrasiklin, doksisisiklin ve trimethoprim+sulfametoksazol için %98.5; minosiklin için %93.8; amikasin için %92.3 ve ampisilin+sulbaktam için %78.5 oranında direnç saptanmıştır. AP-PZR ile araştırmada iki farklı patern gözlenmiştir. Bütün izolatlarda kromozomal kaynaklı OXA-23 ve OXA-51 karbapenemaz enzim geni pozitif bulunmuştur. İzolatların hiçbirinde plazmit izole edilmemiştir.

Sonuç: İzolatlar en sık YBÜ'de yatmakta olan hastaların kan örneklerinde saptanmıştır. İzolatlar M13 ve DAF4 primerlerin kullanıldığı AP-PZR'de klonal benzerlik göstermiştir. Hastanemizde tek *Acinetobacter* kolonu bulunması, hepsinin aynı kaynaktan köken aldığını düşündürmektedir. Bu nedenle karbapenem dirençli izolatların çapraz enfeksiyonlarını önlemek için evrensel enfeksiyon kontrol önlemlerine dikkat etmek gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, oksasilinaz, metallo-beta-laktamaz, PZR.

INTRODUCTION

Acinetobacter baumannii is one of the important causes of nosocomial infections. It is widely present in nature, soil and water, and an opportunistic pathogen that can cause nosocomial cross-transmission between patients, leading to colonization or serious infections (1).

As a result of misuse of broad-spectrum antibiotics, multiresistant *Acinetobacter* species have emerged. The most frequently isolated and antibiotic-resistant species in nosocomial infections is *A. baumannii* (1).

Acinetobacter species are gram-negative coccobacilli, they are immotile and do not have cytochrome oxidase activity. Currently there are at least 25 genomospecies described within the genus *Acinetobacter*. Because of problems in separating the saccharolytic strains belonging to DNA groups 1, 2, 3 and 13 using phenotypic tests, some laboratories have chosen to report members of this group as “*Acinetobacter calcoaceticus* - *A. baumannii* complex”, or saccharolytic *Acinetobacter*. *A. baumannii* acidifies most OF (oxidative-fermentative)

carbohydrates; in particular, definitive identification is made by demonstrating the rapid production of acid from lactose or glucose. Furthermore *A. baumannii* can grow at 42 °C, but other *Acinetobacter* species cannot grow. (1).

Although *Acinetobacter* species are currently less sensitive to carbapenems, they are still among the most effective antibiotics. However, changes in penicillin-binding proteins, reduced outer membrane permeability, and production of chromosomal or plasmid-induced beta-lactamases (carbapenemases) cause resistance to carbapenems (2). The most prevalent mechanism of carbapenem resistance in *A. baumannii* is the production of carbapenem-hydrolyzing β -lactamases, i.e., metallo- β -lactamases (ambler class B) and more usually oxacillinases (ambler class D). Carbapenem-hydrolyzing class D β -lactamases (CHDLs) are currently classified into six subgroups; acquired OXA-23-like, OXA-24/40-like, OXA-58-like, OXA-143-like and OXA-235-like, and the intrinsic OXA-51-like β -lactamases (3).

A. baumannii produces class D oxacillinase that belongs to the chromosomal OXA-51-like enzyme group showing weak carbapenemase activity. However, OXA-51-like enzyme is secreted in high quantities in the presence of ISAb1 gene, causing high-level carbapenem resistance (4).

The metallo-beta-lactamases (MBL), the other carbapenemase group, are named because of the metal ions they carry in their active regions. The described MBL groups include IMP, VIM, SIM, and SPM. *A. baumannii* carries various IMP variants (IMP-1, IMP-2, IMP-4, IMP-5, IMP-6, IMP-8, and IMP-11), but rarely carries the other enzymes (5).

The purpose of this study was to assess the presence of carbapenemases of chromosomal and plasmid origin in carbapenem-resistant *A. baumannii* strains isolated in our hospital and also to investigate the clonal relationship between isolates.

MATERIALS AND METHODS

The study included carbapenem- and multiple-resistant *A. baumannii* strains isolated in patients hospitalized in the School of Medicine Hospital between December 2009 and November 2011. In case of isolation of more than one strain of *A. baumannii* from the same patient, only one strain was included in the study if the antibiotic susceptibility patterns of all isolates were the same.

Strains isolated and identified as *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* complex by a VITEK2 automated system (bioMérieux, France) were stored in liquid medium with beads (Pro-Lab, Canada) at -80 °C until the time of use. The stored strains and *A. baumannii* ATCC 19606 strain were subcultured twice on eosin-methylene blue agar (Salubris, Turkey) at 37 °C for 24 hours. Strains were confirmed as *A. baumannii*, with acid producing from glucose in OF medium and growth ability at 42 °C.

Disk diffusion tests with standard antibiotic disks (Oxoid, United Kingdom) were used for susceptibility tests except for carbapenems and colistin, in addition to VITEK2 automated system. M.I.C. evaluator strips (Oxoid, United Kingdom) were used for carbapenem susceptibility. The susceptibility to antibiotics other than netilmicin was evaluated according to the CLSI criteria (6). The susceptibility to netilmicin was evaluated according to the EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) criteria (7). *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *E. coli* ATCC 25922 served as the quality control strains (6).

The genomic DNA of *A. baumannii* isolates and *A. baumannii* ATCC 19606 strain was extracted by using GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Fermentas, United Kingdom) according to the manufacturer's instructions.

In assessing the clonal relationship between the isolates, arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR) was performed using the M13 and DAF4

primers (8). The PCR mixture was prepared to have a final volume of 25 µl. The final mixture contained 1X buffer solution, 25 pM M13 primer (5'-GAGGGTGGC-GGTTCT-3'), 1.5 mM MgCl₂; 400 µM from each dATP, dGTP, dCTP, and dTTP; 1 U Taq DNA polymerase, and sterile bi-distilled water; and finally 2 µl DNA was added to this mixture. The same mixture was prepared using 25pM of DAF4 primer (5'-CGGCAGC-GCC-3'). The amplification program for M13 primer in the thermal cycler (Eppendorf, Germany) was as follows: at 94°C for 2 minutes, 35 cycles at 94°C for 20 seconds, at 50°C for 1 minute, at 72°C for 20 seconds, and lastly at 72°C for 5 minutes. The amplification program for DAF4 primer was as follows: at 94°C for 2 minutes, 45 cycles at 94°C for 40 seconds, and at 45°C for 40 seconds, at 72°C for 40 seconds, and lastly at 72°C for 5 minutes. The obtained PCR product was analyzed with 1% agarose gel electrophoresis by applying 100 V for 45 minutes (Wealtec, USA), then studied under UV transilluminator and photographed. Different band patterns of the isolates were evaluated. To determine the size and quantity, 80-10.000 bp DNA ladder (Fermentas, United Kingdom) and 1 kb DNA ladder (Fermentas, United Kingdom) were used and *A. baumannii* ATCC 19606 was used as the positive control with sterile deionized water as the negative control.

To assess the presence of carbapenemase in the isolates, multiplex-PCR was carried with OXA-23, OXA-24, OXA-51 and OXA-58 as the first group and then with IMP, VIM, SIM and SPM as the second group, using the primer pairs shown in Table 1 (9, 10). The PCR mixture was prepared to have a final volume of 25 µl. The final mixture contained 1X buffer solution, 12.5 pM from each primer, 1.5 mM MgCl₂; 200 µM from each dATP, dGTP, dCTP, and dTTP; 1.5 U Taq DNA polymerase, and sterile bi-distilled water. Lastly, 3 µl DNA extract was added to the solution. The amplification program was as follows: at 94°C for 3 minutes, 35 cycles at 94°C for 45 seconds, at 57°C for 45 seconds, at 72°C for 1 minute, and lastly at 72°C for 5 minutes. The obtained PCR product was ana-

Table 1. Antimicrobial resistance rates of *A. baumannii* isolates (NEU Hospital 2010-2014).

OXA-23-likeF	5'-GAT CGG ATT GGA GAA CCA GA-3'
OXA-23-likeR	5'-ATT TCT GAC CGC ATT TCC AT-3'
OXA-24-likeF	5'-GGT TAG TTG GCC CCC TTA AA-3'
OXA-24-likeR	5'-AGT TGA GCG AAA AGG GGA TT-3'
OXA-51-likeF	5'-TAA TGC TTT GAT CGG CCT TG-3'
OXA-51-likeR	5'-TGG ATT GCA CTT CAT CTT GG-3'
OXA-58-likeF	5'-AAG TAT TGG GGC TTG TGC TG-3'
OXA-58-likeR	5'-CCC CTC TGC GCT CTA CAT AC-3'
IMP1-F	5'-CTA CCG CAG CAG AGT CTT TGC-3'
IMP1-R	5'-GAA CAA CCA GTT TTG CCT TAC C-3'
SPM-F	5'-CCT ACA ATC TAA CGG CGA CC-3'
SPM-R	5'-TCG CCG TGC CAG GTA TAA C-3'
VIM-F	5'-TCT ACA TGA CCG CGT CTG TC-3'
VIM-R	5'-TGT GCT TTG ACA ACG TTC GC-3'
SIM-F	5'-GTA CAA GGG ATT CGG CAT CG-3'
SIM-R	5'-TGG CCT GTT CCC ATG TGA G-3'

lyzed in 1% agarose gel electrophoresis by applying 100 V for 45 minutes (Wealtec, USA), then visualized under UV lamp and photographed. The presence of genes was assessed in the bands formed (10, 11). To determine the size and quantity, 80-10.000 bp DNA ladder and 1 kb DNA ladder were used. *A. baumannii* ATCC 19606 was used as the positive control with sterile deionized water as the negative control. Upstream presence of ISAb₁ was not studied.

In order to assess the presence of plasmid-borne carbapenemase, GeneJET Plasmid Miniprep Kit (Fermentas, United Kingdom) was used according to the manufacturer's instructions. To determine the plasmids, the obtained plasmid DNA was run in 1% agarose gel electrophoresis by applying 100 V for 45

minutes (Wealtec, USA), then studied under UV lamp and photographed, using 80-10.000 bp DNA ladder. As positive control *E. coli* strains isolated from patients were used with sterile deionized water as negative control.

RESULTS

The 65 clinical isolates of *A. baumannii* were isolated from 62 patients (33 male and 29 female). Different isolates were obtained from blood and respiratory secretion of one patient and from two cerebro-spinal fluid (CSF) specimens and blood of another patient. The age of the patients ranged from 4 to 91 with a mean age of 60.26 ± 18.20 years. Most of the isolates (43/65, 66.2%) were from the ICU, followed by other units ranging from 1.5 to 7.7%. The isolates were, in order of frequency, blood (24/65, 36.9%), endotracheal aspirate (16/65, 24.6%), wound (8/65, 12.3%), urine (8/65, 12.3%), sputum (5/65, 7.7%), CSF (2/65, 3.1%), and tissue (2/65, 3.1%) isolates.

The antibiotic susceptibility results of disk diffusion and VITEK2 automated system were identical. The isolates were most susceptible to tobramycin and netilmicin for 98.5% and to colistin for 96.9%. The isolates were highly resistant to other antibiotics tested. All of the isolates were found resistant to ticarcillin, piperacillin, piperacillin-tazobactam, ceftazidime, ceftriaxone, sefepime, imipenem, meropenem, and ciprofloxacin. Resistance rates to ticarcillin-clavulanic acid, gentamicin, levofloxacin, tetracycline, doxycycline, and trimethoprim-sulfamethoxazole were same and 98.5%. Resistance rates to minocycline, amikacin and to ampicillin-sulbactam were 93.8%, 92.3% and 78.5% respectively.

All isolates belonged to same clone except the 33rd isolate with M13 and DAF4 primers in AP-PCR test (Figures 1 and 2). The 33rd isolate was from a wound in a patient who had an operation for lumbar disc hernia in another city two months prior to

its isolation. This isolate was found to differ from other isolates by being susceptible to tetracycline, doxycycline, and minocycline; intermediately susceptible to levofloxacin, and resistant to tobramycin.

Three isolates from the same patient with different antibiotic susceptibility patterns were included in the study. This patient is a case who was hospitalized in the ICU with diagnosis of subarachnoid hemorrhage on December 3, 2010, was monitored by the Neurosurgery Clinic, and from whom *A. baumannii* had been isolated in the hemoculture on December 20, 2010 (35th isolate). This 35th isolate was the first isolate from this patient and its antibiotic susceptibility pattern was similar to those of other isolates from other patients and showed susceptibility to colistin. However, two isolates obtained from the CSF of the same patient on dates January 25 and February 17, 2011 (37th and 65th isolates, respectively) were found to be colistin-resistant. The AP-PCR study showed that all these three isolates were not different from other isolates.

According to the results of multiplex-PCR test to assess the presence of oxacillinase and MBL, all isolates had OXA-23 of size 501 bp and OXA-51 of size 353 bp (Figure 3), but no genes of OXA-24, OXA-58, IMP-1, SPM, VIM, and SIM were found.

In assessing plasmid-borne carbapenemases, no plasmids was obtained from the isolates.

DISCUSSION

Nosocomial infections (NIs), causing long hospitalization, increased morbidity and mortality, and economic loss due to extra treatment expenditures, are important. *Acinetobacter* species are increasingly isolated as agents of NIs, particularly of those in ICUs. However, the differentiation of *Acinetobacter* spp. needs molecular confirmation techniques (12). The presence of blaOXA-51 gene also continues to be an appropriate genetic marker for *A. baumannii* identification (13).

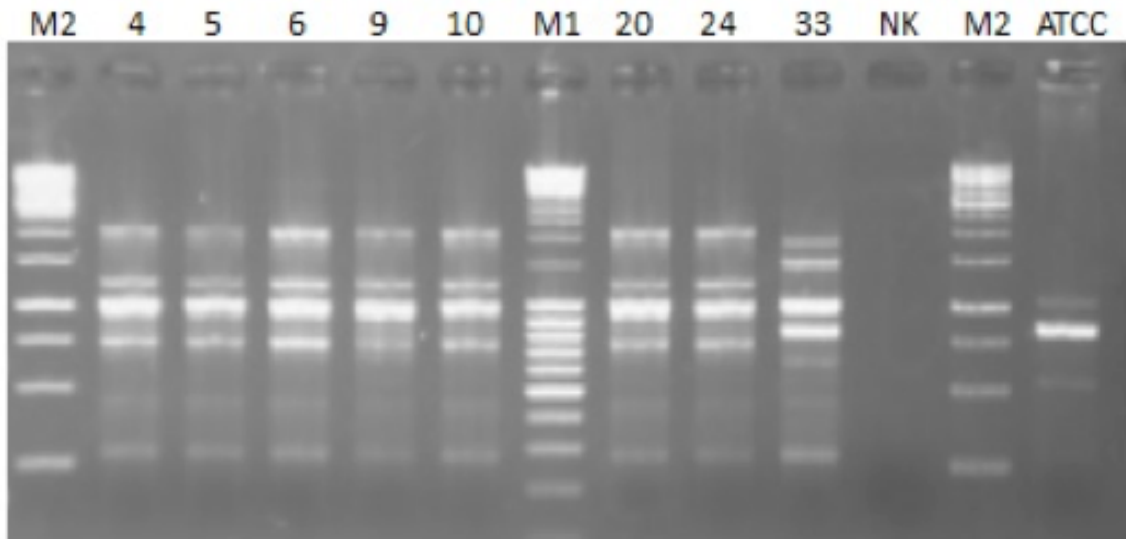


Figure 1. Different patterns by M13 primer. M1: 80-10.000 bp DNA ladder, M2: 1 kb DNA ladder, NK: Negative control, ATCC: *A. baumannii* 19606

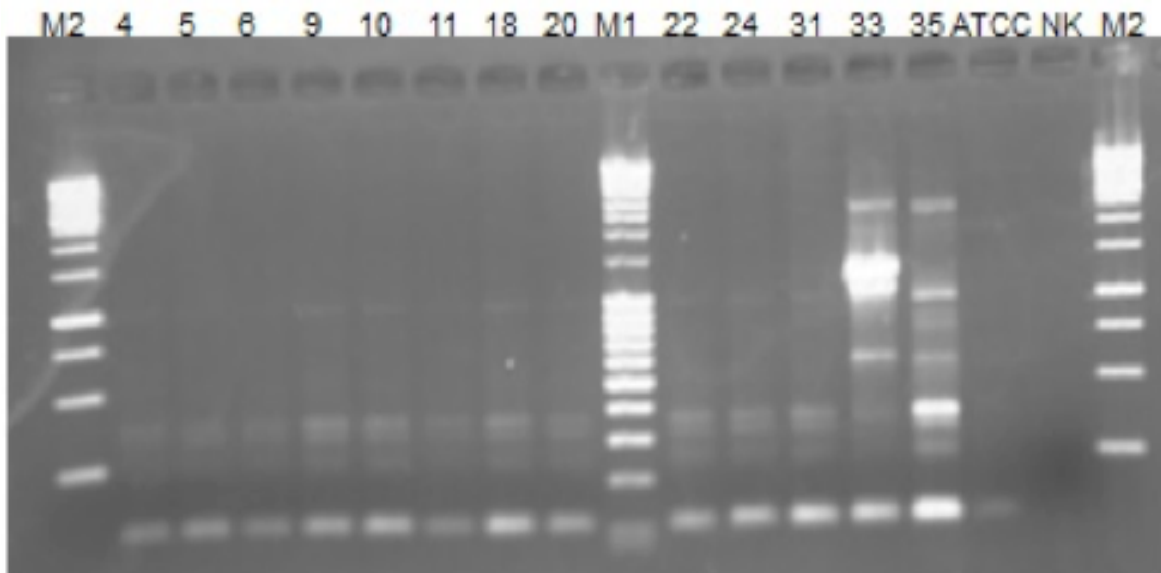


Figure 2. Different patterns by DAF4 primer. M1: 80-10.000 bp DNA ladder, M2: 1 kb DNA ladder, NK: Negative control, ATCC: *A.baumannii* 19606

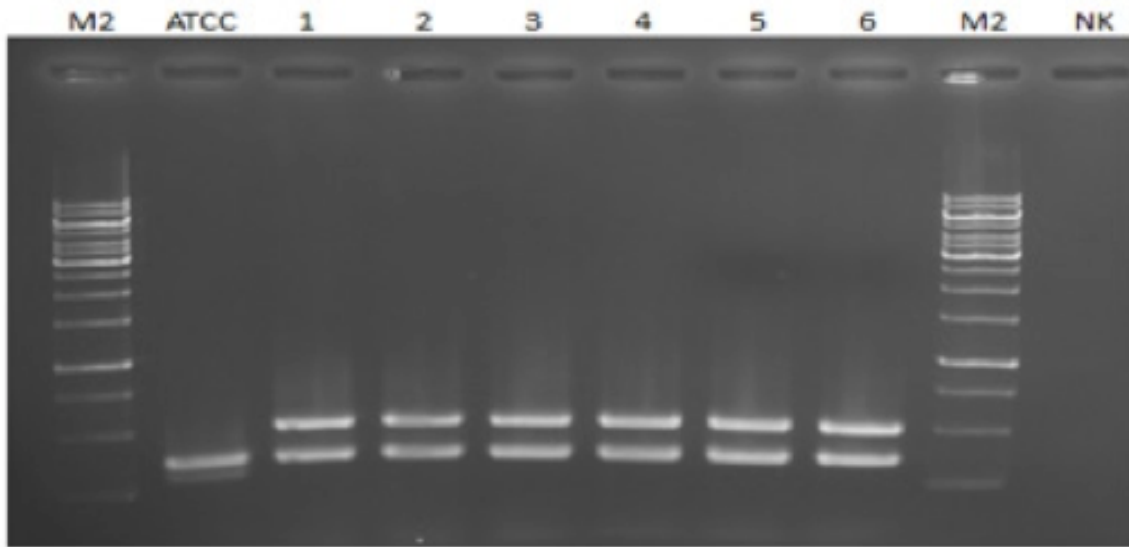


Figure 3. Multiplex PCR results. M2: 1 kb DNA ladder, NK: Negative control, ATCC: *A. baumannii* 19606

However, blaOXA-51 gene was also found recently in carbapenem-resistant non-baumannii species of *Acinetobacter*: *A. nosocomialis* (formerly *Acinetobacter* genomic species 13TU) and *Acinetobacter* genomic species “Close to 13U” (14). Members of the *A. calcoaceticus* - *A. baumannii* complex are *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, genomic species 3 and genomic species 13TU, so we accepted our isolates as *A. calcoaceticus* - *A. baumannii* complex. *A. baumannii* is the most frequently isolated agent among other species (12). It causes NIs such as pneumonia, sepsis, meningitis, and urinary infections in hospitalized patients, particularly among those treated in ICUs (15). Also in our study, we isolated *A. baumannii* most frequently from blood samples of patients in the ICU. The second most frequent body site for isolation was lower respiratory tract from which endotracheal aspirates and sputum were obtained.

Acinetobacter species are increasingly becoming multiple-antibiotic resistant, leading to difficulty in the treatment of infections they cause. Currently, NIs due to carbapenem-resistant *A. baumannii* strains

are increasing. According to the results of the MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) Antimicrobial Surveillance Program studies carried out by Hacettepe University, the most effective antibiotics against *A. baumannii* were meropenem by 53%, imipenem by 48%, and tobramycin by 44% (16). Iraz et al. in their study reported that their *Acinetobacter* isolates were susceptible to colistin and netilmicin at rates of 99% and 85%, respectively (17). In our study, we found that *A. baumannii* isolates were most susceptible to tobramycin, netilmicin and colistin, whereas they showed minimal susceptibility to other antibiotics which cannot be considered for therapy. Generally, many carbapenem resistant *A. baumannii* clinical isolates were found to be resistant to aminoglycosides in many studies. We did not study the mechanisms for aminoglycoside resistance. Different resistance genes located on plasmids, transposons or class I integrons may be responsible for this resistance (18). It is possible to find different resistance profiles in different locations; for example in a study from Australia the carbapenem resistant isolates have OXA-23 genes, however resistance to

netilmicin has not been found (19). The majority of our isolates belonged to a single clone, so the unusual aminoglycoside resistance profile (high resistance to amikacin compared to high susceptibility to netilmicin and tobramycin) may be associated with this matter.

The antibiotic resistance of *Acinetobacter* species has led investigators to seek other treatment alternatives. Infections caused by such resistant strains can be treated with colistin (20). In the last few years, infections caused by colistin-susceptible *Acinetobacter* have emerged and have been successfully treated with colistin. In our study, colistin was found to be the fourth most effective antibiotic against *A. baumannii*. In our hospital, colistin is used in the therapy of multiple-resistant *A. baumannii* infections since susceptibility to netilmicin cannot be assessed by VITEK2 automated system AST-N90 card and since providing tobramycin as a drug is difficult. However, colistin has some serious side-effects which render its use problematic. Also, colistin-resistant and heteroresistant strains which are difficult to determine have emerged in recent years, limiting the use of colistin in therapy (21). In our study, we found two isolates of *A. baumannii* were resistant to colistin, namely, isolates numbered (no.) 37 and 65, belonging to the same patient. Isolate no. 37 was the first isolate obtained a month prior to isolate no. 65. Following the isolation of colistin-resistant isolate no. 37, the patient had received colistin therapy which might have led the present hetero-colistin-resistance to develop into colistin-resistance.

Since it is not possible to identify *Acinetobacter* species with phenotypic methods, genotypic methods are required for identification (22). PCR-based methods are widely used for the epidemiologic typing of *A. baumannii*. When PCR-based typing is compared with other methods, it enables differentiation similar to that of ribotyping, but less than that of PFGE. Concordance between PFGE, rep-PCR and MLST for *A. baumannii* typing has been shown in various studies (23). In a multi-center study with participation of different countries, Grundmann et al. reported that PCRs carried out with isolated *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* complex using M13, DAF4, ERIC2, and REP primer sets gave high rates of similar results. The authors also reported that similar

results were obtained when standard DNA extraction and amplification conditions were provided and that with M13 primer more marked band patterns and thus better differentiation were obtained when compared with other primers (8).

In our study, we used the M13 and DAF4 primers, and with each primer we obtained two different bands, more marked with M13 primer. Isolate no. 33 was accepted as an exogenous isolate since it was obtained from a patient who had undergone an operation in another medical center one month prior to its isolation and showed antibiogram patterns different from those of other isolates. The same patterns were shared by all 65 isolates included in this study except isolate no. 33 which indicates that there is one single *Acinetobacter* clone from the same source in our hospital. Since *A. baumannii* strains are occasionally isolated in our hospital since 2009, it would be more correct to describe this clonal strain as an endemic strain rather than an epidemic strain. It is suggested that more attention should be given to universal infection control measures to prevent the transmission of bacteria between patients. Studying environmental samples routinely is not recommended. However, during epidemics environmental sampling should definitely be completed to determine the source of the causative microorganism and to obtain more relevant data (24).

The resistance to carbapenems is frequently associated with acquirement of genes responsible for the synthesis of carbapenamases which include oxacillinase and MBLs. Besides these genes, resistance to carbapenems is also caused by excess production of OXA-51 type natural oxacillinase (5). Gür et al. (25) in their study found OXA-58 in 18 (40.9%) and OXA-23 in 26 (59.1%) isolates. A multicenter study in Turkey reported the presence of OXA-51 in 100%, OXA-23 in 74.4%, and OXA-58 in 17.3% of carbapenem-resistant *A. baumannii* isolates, but absence of OXA-24 in all isolates (26). Another study reported the presence of OXA-51 in 100% and OXA-23 in 78.2% of carbapenem-resistant *A. baumannii* isolates, but absence of OXA-58 in all isolates (27). A study in Greece found OXA-51 in 15 and OXA-58 in 14 of the 17 *A. baumannii* isolates, but no OXA-23 and OXA-24 (28). In the same study, the

enzymes IMP, VIM, SIM, and SPM were investigated by using Etest and molecular methods, but MBL enzymes were not found with either method (28). A study in Brazil reported the presence of OXA-23 in all of 172 *A. baumannii* isolates investigated, but absence of IMP, VIM, SIM, and SPM as MBL enzymes (10).

In our study, we investigated the presence of oxacillinase enzymes, namely, OXA-23, OXA-24, OXA-51, and OXA-58, and presence of MBL enzymes, namely, IMP, VIM, SIM, and SPM using multiplex-PCR. Since OXA-23 and OXA-51 were present and OXA-24, OXA-58, IMP, VIM, SIM, and SPM were absent in all isolates, we consider that carbapenemase resistance could be due to excess production of OXA-type natural oxacillinase and to OXA-23 enzyme gene. We did not study the existence of ISAb1 genes, though it is reported

that this gene provides the promoter for blaOXA-51-like and blaOXA-23-like genes upstream of these carbapenemases and the resistance to carbapenems is closely related to the ISAb1 promoter (4).

Antibiotics used in the therapy of nosocomial *A. baumannii* are limited in number and in the near future emerging multiple-antibiotic resistant *A. baumannii* strains may cause infections that cannot be effectively treated. In view of these facts, to prevent cross-transmission of *A. baumannii* among patients colonized or infected, contact isolation should be carefully performed, medical staff should be regularly and repeatedly trained, importance of hand washing should always be stressed, and disinfection of the surroundings should be more frequently repeated.

ACKNOWLEDGEMENTS

This investigation was supported by the Scientific Research Projects of University (Project No: 2011/114).

REFERENCES

1. Winn WC, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL. The Nonfermentative Gram-Negative Bacilli. In: Winn WC, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL eds. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams-Wilkins, 2006: 303-391.
2. Lolans K, Rice TW, Munoz-Price S L, Quinn JP. Multicity outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producing the carbapenemase OXA-40. Antimicrob Agents Chemother, 2006; 50 (9): 2941-5.
3. Higgins PG, Perez-Llarena FJ, Zander E, Fernandez A, Bou G, Seifert H. OXA-235, a novel class D β -lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother, 2013; 57(5): 2121-6.
4. Turton JF, Ward ME, Wood N, Kaufmann MEE, Pike R, Livermore DM, et al. The role of ISAb1 in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. FEMS Microbiol Lett, 2006; 258: 72-7.
5. Poriel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms and epidemiology. Clin Microbiol Infect, 2006; 12: 826-36.
6. Clinical And Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-Second Informational Supplement. CLSI document M100-S22. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA. 2012.
7. European Committee On Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. v2.0. 2012.

8. Grundmann HJ, Towner KJ, Dijkshoorn L, Gerner-Smidt P, Maher M, Seifert H, et al. Multicenter study using standardized protocols and reagents for evaluation of reproducibility of PCR-based fingerprinting of *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol*, 1997; 35: 3071-7.
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. Bier KES, Luiz SO, Scheffer MC, Gales AC, Paganini MC, Nascimento AJ, et al. Temporal evolution of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* in Curitiba, southern Brazil. *American J Infect Control*, 2010; 38: 308-14.
11. 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.
12. Higgins PG, Lehmann M, Wisplinghoff H, Seifert H. *gryB* multiplex PCR to differentiate between *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter genomic species 3*. *J Clin Microbiol*, 2010; 48 (12): 4592-4.
13. Wang J, Ruan Z, Feng Y, Fu Y, Jiang Y, Wang H, et al. Species distribution of clinical *Acinetobacter* isolates revealed by different identification techniques. *Journal Plos One*, 2014 Aug 14; 9(8): e104882. DOI; 10.1371/journal.pone.0104882.
14. Nowak P, Paluchowska P, Budak A. Co-occurrence of carbapenem and aminoglycoside resistance genes among multidrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from Cracow, Poland. *Med Sci Monit Basic Res*, 2014; 20: 9-14.
15. Schreckenberger PC, Daneshvar MI, Hollis DG. *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Chryseobacterium*, *Moraxella*, and other nonfermentative Gram-negative rods. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover JC, Tenover FC, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. Washington DC: ASM Press, 2007; 770-802.
16. Zarakolu P, Haşçelik G, Ünal S. Antimicrobial susceptibility pattern of nosocomial Gram negative pathogens: Results from MYSTIC study in Hacettepe University adult Hospital (2000-2004). *Mikrobiyol Bul*, 2006; 40: 147-54.
17. Iraz M, Ceylan A, Akkoyunlu Y. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* türlerinde antibiyotik direnç oranlarının incelenmesi. *ANKEM Dergisi*, 2012; 26(2): 80-5.
18. Gordon NC, Wareham DW. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*; mechanism of virulence and resistance. *Int J Antimicrob Agents*, 2010; 35: 219-26.
19. Nigro SJ, Post V, Hall RM. Aminoglycoside resistance in multiply antibiotic-resistant *Acinetobacter baumannii* belonging to global clone 2 from Australian hospitals. *J Antimicrob Chemother*, 2011; DOI; 10.1093/jac/dkr163.
20. Levin AS, Barone AA, Penco J, Santos MV, Marinho IS, Arruda EAG, et al. Intravenous colistin therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis*, 1999; 28: 1008-11.
21. Hawley JS, Murray CK, Jorgensen JH. Colistin heteroresistance in *Acinetobacter* and its association with previous colistin therapy. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008; 52 (1): 351-2.
22. Olive DM, Principles PB. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. *J Clin Microbiol*, 1999; 37(6): 1661-9.
23. Schuetz AN, Huard RC, Eshoo MW, Massire C, Della-Latta P, Wu F, et al. Identification of a novel *Acinetobacter baumannii* clone in a US hospital outbreak by multilocus polymerase chain reaction/electrospray-ionization mass spectrometry. *Diagnostic Microbiol Infect Dis*, 2012; 72: 14-9.
24. Aygün G. Yoğun bakım birimi infeksiyonlarında çevre şartlarının önemi. *Klinik Dergisi*, 2003; 16(3): 106-7.
25. Gür D, Korten V, Ünal S, Deshpande LM, Castanheira M. Increasing carbapenem resistance due to the clonal dissemination of oxacillinase (OXA-23 and OXA-58)-producing *Acinetobacter baumannii*: Report from the Turkish SENTRY program sites. *J Med Microbiol*, 2008; 57: 1529-32.
26. Çiftçi İH, Aşık G, Karakeçe E, Öksüz L, Yağcı S, Sesli-Çetin E, ve ark. *Acinetobacter baumannii* izolatlarında blaOXA genlerinin dağılımı: Çok merkezli bir çalışma. *Mikrobiyol Bul*, 2013; 47(4): 592-602.
27. Çiçek AC, Saral A, Iraz M, Ceylan A, Düzgün AO, Peleg AY, et al. OXA- and GES-type β -lactamases predominate in extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from a Turkish University Hospital. *Clin Microbiol Infect*, 2014; 20(5): 410-5.
28. Pournaras S, Markogiannakis A, Ikonomidis A, Kondyli L, Bethimouti K, Maniatis AN, et al. Outbreak of multiple clones of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates expressing OXA-58 carbapenemase in an intensive care unit. *J Antimicrob Chemother*, 2006; 57: 557-61.

Yoğun bakım hastalarında hastane kaynaklı pnömoni olgularının değerlendirilmesi ve sık görülen bakteriyel etkenlerin antimikrobiyallere dirençlerinin araştırılması

Evaluation of nosocomial pneumonia in intensive care unit patients and investigation of antimicrobial resistance of frequently encountered bacterial isolates

Yasemin GENÇ¹, Yakup GÜRKAN¹, İpek MUMCUOĞLU¹, Dilek KANYILMAZ², Altan AKSOY¹, Neriman AKSU¹

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı; hastanemiz yoğun bakım üniteleri (YBÜ)'nde yatmakta olan hastalardan alınan alt solunum yolu örneklerinden izole edilen hastane kaynaklı pnömoni (HKP) etkenlerinin tür dağılımlarını, direnç paternlerini ve etken-kolonizasyon oranlarını saptamaktır.

Yöntem: Çalışmada 11.06.2012-01.01.2014 tarihleri arasında üreme saptanan 96 balgam ve 1023 endotrakeal aspirat (ETA) olmak üzere 1119 alt solunum yolu örneği retrospektif olarak incelenmiştir. ETA örnekleri kantitatif kültür, balgam örnekleri ise kalitatif kültür yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Üreyen mikroorganizmaların ayrımı hastanemiz Enfeksiyon Kontrol Komitesi tarafından CDC kriterlerine göre yapılmıştır. İdentifikasyon ve antibiyotik duyarlılık testleri Vitek-2 (bioMerieux, France) otomatize sistemiyle çalışılmıştır.

Bulgular: Toplam 678 hastadan alınan 1119 örnekten 1309 mikroorganizma izole edilmiştir. Bu mikroorganizmalardan 401 hastaya ait 962 mikroorganizma kolonizasyon, 277 hastaya ait 347 mikroorganizma ise etken olarak kabul edilmiştir. Etken mikroorganizmaların 338'i ETA, dokuzu balgam materyalinden üretilmiştir. En sık görülen etken

ABSTRACT

Objective: The aim of the study is to investigate the distributions of species, resistance patterns and infection-colonization rates of hospital acquired pneumoniae (HAP) agents which isolated from lower respiratory tracts of the patients hospitalized in intensive care units (ICU).

Method: In the study, it was retrospectively evaluated 1119 lower respiratory tract samples [96 sputum, 1023 endotracheal aspirates (ETA)] with positive culture results, and obtained between June 11, 2012 - January 01, 2014. Quantitative cultures were done in ETA samples, and qualitative cultures were done in sputum samples. Separation of growing microorganism on culture was done by Infection Control Committee of our hospital, in accordance with CDC criteria. Identification and antibiotic susceptibility tests were performed by Vitek-2 (bioMerieux, France) automated system.

Results: One thousand three hundred and nine microorganisms were isolated from 1119 samples obtained from a total of 678 patients. Of those microorganisms, 962 isolates from 401 patients were considered as colonization, while 347 microorganisms isolated from 277 patients were accepted as causative agents. Of causative microorganisms, 338 were from ETA, nine were produced from sputum materials. The most frequently isolated

¹Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara

²Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Kontrol Komitesi, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Yasemin GENÇ

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, 06250 Ankara - Türkiye
Tel : +90 544 276 57 06 E-posta / E-mail : gncyaseminn@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 01.12.2015
Kabul Tarihi / Accepted : 30.05.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.84755

Genç Y, Gürkan Y, Mumcuoğlu İ, Kanyılmaz D, Aksoy A, Aksu N. Yoğun bakım hastalarında hastane kaynaklı pnömoni olgularının değerlendirilmesi ve sık görülen bakteriyel etkenlerin antimikrobiyallere dirençlerinin araştırılması. Turk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(4): 355-364

mikroorganizmalar; ETA örneklerinde *Acinetobacter baumannii* [208 (%61.5)], *Pseudomonas* spp. [53 (%15.6)], *Klebsiella pneumoniae* [20 (%5.9)], *Staphylococcus aureus* [18 (%5.3)], *Escherichia coli* [9 (%2.6)]; balgam örneklerinde *A. baumannii* [6 (%66,6)], *Pseudomonas* spp. [2 (%22.2)], *K. pneumoniae* [1 (%11.1)]'dir. Kolonizasyon yapan mikroorganizmalar ise *A. baumannii* [272 (%28.3)], Enterobacteriaceae üyeleri [228 (%23.7)], *Pseudomonas* spp. [131 (%13.6)], *Candida* spp. [138 (%14.3)] olarak saptanmıştır. En sık izole edilen *A. baumannii*, *Pseudomonas* spp. ve *K. pneumoniae* izolatlarının tamamının çoklu antimikrobiyal direnci olduğu izlenmiştir. HKP tanısı konulan hastaların enfeksiyonlarından 235'i ventilatör ilişkili pnömoni (VİP), 63'ü ise VİP dışı HKP olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç: HKP, YBÜ'lerde sık görülen mortalitesi yüksek bir hastane enfeksiyonudur. YBÜ'lerde HKP etkeni olan mikroorganizmaları belirlemek ve antimikrobiyal duyarlılıklarını izlemek ampirik tedavide yol gösterici olduğu gibi mortalite ve morbiditeyi azaltmak için de önemlidir. Olguların çoğunun geç başlangıçlı olması hastanede yatış süresinin HKP açısından önemli bir risk faktörü olduğunu göstermektedir. En sık etken *A. baumannii* olarak tespit edilmiş ve bu mikroorganizma için kolistin tedavide tek seçenek olduğu görülmüştür. Kolonize olan mikroorganizmaların zamanla etken haline dönüşebileceği unutulmamalı ve bu hastalar takip edilmelidir.

Anahtar Kelimeler: hastane kökenli pnömoni, ventilatör ilişkili pnömoni, antimikrobiyal direnç, kolonizasyon

microorganisms in ETA samples were 208 *Acinetobacter baumannii* (61.5%), 53 *Pseudomonas* spp. (15.6%), 20 *Klebsiella pneumoniae* (5.9%), 18 *Staphylococcus aureus* (5.3%), and 9 *Escherichia coli* (2.6%), those that are in sputum samples were 6 *A. baumannii* (66.6%), 2 *Pseudomonas* spp. (22.2%), 1, *K. pneumoniae* (11.1%). The microorganisms regarded as colonization were 272 *A. baumannii* (28.3%), 228 Enterobacteriaceae spp. (23.7%), 131 *Pseudomonas* spp. (13.6%), and 138 *Candida* spp. (14.3%). The most frequently isolated *A. baumannii*, *Pseudomonas* spp. and *K. pneumoniae* were found to be multiple antimicrobial resistance. Of patients with nosocomial pneumonia (HAP), 235 were considered as ventilator-associated pneumonia (VAP), but 63 were non-VAP NP.

Conclusion: HAP is a nosocomial infection with a high mortality rate, which is frequently seen in ICUs. Determining the microorganisms causing HAP in ICUs, and monitoring their antimicrobial susceptibilities is also important to reduce mortality and morbidity as well as to guide empirical therapy. The fact that most of the cases are late-onset displays that that duration of hospital stay is an important risk factor in terms of HAP. The most frequent causative agent was detected *A. baumannii*, and colistin for this microorganism was seen as the only treatment option. It should be kept in mind that colonized microorganisms may be causative infectious agents eventually, and the patients should be monitored.

Key Words: hospital acquired pneumonia, ventilator-associated pneumonia, antimicrobial resistance, colonization

GİRİŞ

Hastane enfeksiyonları (HE), hastanede yatan hastalarda en önemli mortalite ve morbidite nedenlerinden biridir ve özellikle yoğun bakım ünitesi (YBÜ) gibi yüksek riskli alanlarda yatan hasta grubunda ciddi tehdit oluşturmaktadır (1). YBÜ'de yatan hastalar tüm hastaların %5.0-10'unu oluştururken, hastane enfeksiyonlarının

%25'i bu ünitelerde görülmektedir (2). YBÜ'de hastane enfeksiyonları arasında ilk sırayı alt solunum yolu enfeksiyonları alırken, bunu üriner sistem enfeksiyonları, cerrahi yara enfeksiyonları ve bakteriyemi izlemektedir (3). YBÜ'de hastane kaynaklı pnömoni (HKP)'nin %70'ini ventilatör ilişkili pnömoni (VİP) oluşturur (4). VİP, mekanik

ventilasyon (MV) desteği alan hastaların %8-28'inde gelişen ve mortalite oranı %27-76'ya kadar yükselen ciddi bir komplikasyondur (5).

YBÜ'lerde tedavi edilen hasta grubu, invaziv girişimlerin sıklıkla uygulandığı, genel durum bozukluğu nedeni ile diğer hastalara göre hastanede kalış süreleri daha uzun olan ve sıklıkla geniş spektrumlu antimikrobiyal uygulanan hastalardır (6). Bu ünitelerde yoğun antimikrobiyal kullanımının hem gram-pozitif hem de gram-negatif bakterilerde ciddi boyutlarda direncin oluşmasında önemli katkısı vardır (7). Antimikrobiyallere karşı giderek artan direnç, özellikle kritik hastaların ampirik tedavi seçiminde önemli bir sorundur (8).

Dirençli mikroorganizmaların neden olduğu birçok HE'de enfeksiyonun kaynağının asemptomatik hastalardaki kolonizasyon olduğu, hastaların florasında bulunabilen bu mikroorganizmaların endojen kaynaklı enfeksiyona neden olabileceği ve ayrıca diğer hastalara da sağlık personellerinin elleri ve medikal araçlar aracılığıyla taşınabileceği ileri sürülmektedir. (9,10)

A. baumannii ve *P. aeruginosa* başta olmak üzere, gram-negatif bakteriyel patojenler, nozokomiyal alt solunum yolu enfeksiyonlarının önemli bölümünden sorumludurlar (11, 12). Birçok antimikrobiyale dirençli patojenler nedeniyle son yıllarda HKP tedavisinde sorunlar yaşanmaktadır. Tedaviye yanıtı etkileyen en önemli faktörler hasta popülasyonunun yanı sıra enfeksiyona neden olan etkenin türü ve antimikrobiyal duyarlılığıdır (12, 13). Etkin bir tedavi yapabilmek için YBÜ'lerde sıkça saptanan etkenlerin ve bunların duyarlı oldukları antimikrobiyallerin bilinmesi yol göstericidir (8). Sık karşılaşılan etkenler ve direnç özellikleri coğrafi bölgeler, hastaneler, hatta aynı hastane içindeki farklı YBÜ'lerde farklılık göstermektedir.

Bu çalışmada; hastanemiz YBÜ'lerde

gelişen HKP olgularının değerlendirilmesi, sık görülen bakteriyel etkenlerin antimikrobiyal duyarlılıklarının araştırılması, bakteriyel etken ve kolonizasyon olan mikroorganizmaların sıklıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada 11.06.2012 - 01.01.2014 tarihleri arasında Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi YBÜ'de üreme saptanan 96 balgam, 1023 endotrakeal aspirat (ETA) olmak üzere 1119 alt solunum yolu örneği retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Hasta verilerine, Hastane Enfeksiyon Kontrol Ekibi tarafından aktif ve laboratuvara dayalı yapılan surveyans verilerinden ulaşılmıştır. Surveyans bilgileri ve hastane enfeksiyonları tanıları Ulusal Hastane Enfeksiyonları Surveyans Ağı (UHESA) tanı kriterlerine dayanılarak kaydedilmiştir.

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na yoğun bakım ünitelerinden gönderilen bütün ETA örnekleri lüken tüpüyle alınmıştır. Entübe olmayan hastalardan ise derin öksürükle balgam örnekleri alınmıştır. ETA örneklerine kantitatif kültür, balgam örneklerine kalitatif kültür yöntemleri uygulanmıştır. Örneklerden ilk aşamada mikroskopik olarak değerlendirmek için preparat hazırlanmış ve gram yöntemiyle boyanarak örneğin kalitesi, hakim mikroorganizmalar ve lökositler araştırılmıştır. Balgam örneklerinden, her sahada 25'ten çok lökosit, 10'dan az epitel içeren örnekler uygun kabul edilmiştir. Materyaller rutin prosedürlere uygun olarak %5 kanlı agar, çikolata agar ve eozin metilen mavisi agara (EMB) ekilerek 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Üreme olmadığında inkübasyon süresi balgam örneklerinde 48 saate kadar, ETA örneklerinde 72 saate kadar uzatılmıştır.

Hastanemiz yoğun bakım ünitelerinde entübe edilen tüm hastalardan pnömoni

bulgusu olsun olmasın tüm hastalardan düzenli ETA örneği alınmaktadır. Bu nedenle örnekler kantitatif ekilerek koloni sayısı verilmektedir. Laboratuvarımızda ETA örneklerinde 105 cfu/ml ve üzerinde üreme saptandığında etken kabul edilmiştir (14, 15). Kolonize olarak kabul edilen bakterilerin sadece identifikasyonları yapılırken etken kabul edilen mikroorganizmaların hem identifikasyon hem antimikrobiyal duyarlılık testleri Vitek-2 otomatize sistemiyle çalışılmıştır. Antibiyotiklerin duyarlılıkları Klinik ve Laboratuvar Standartları Kurumu (Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI) önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir. Üreyen mikroorganizmaların etken kolonizasyon ayrımı hastanemiz Hastane Enfeksiyon Kontrol Komitesi tarafından Hastalıktan korunma ve önleme merkezleri (CDC) kriterlerine göre yapılmıştır.

BULGULAR

Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen 678 hastaya ait 1119 örnekten 1309 mikroorganizma izole edilmiştir. Bu mikroorganizmalardan 401 hastaya ait 962 mikroorganizma kolonizasyon, 277 hastaya ait 347 mikroorganizma ise etken olarak kabul edilmiştir. Etken mikroorganizmaların 338'i ETA, dokuzu balgam materyallerinden üretilmiştir. Etken kabul edilen hastaların 150'si erkek (%54.2), 127'si (%45.8) kadın; erkeklerin yaş ortalaması 66.2±17, kadınların yaş ortalaması 74.5±14.1 olarak bulunmuştur. Hastaların 204'ü (%73.6) exitus olurken, 73'ü (%26.4) şifa ile taburcu olmuştur.

En sık görülen etken mikroorganizmalar ETA örneklerinde; *A. baumannii* 208 (%61.5), *Pseudomonas* spp. 53 (%15.6), *K. pneumoniae* 20 (%5.9), *S. aureus* 18 (%5.3), *E. coli* 9 (%2.6), balgam

örneklerinde; *A. baumannii* 6 (%66.6), *Pseudomonas* spp. 2 (%22.2), *K. pneumoniae* 1 (%11.1)'dir. Kolonizasyon olan mikroorganizmalardan en sık görülenler; *A. baumannii* 272 (%28.3), *Pseudomonas* spp. 131 (%13.6), Enterobacteriaceae ailesi üyeleri 228 (%23.7), *Candida* spp. 138 (%14.3), *S. aureus* 82 (%8.5), *Corynebacterium* spp. 42 (%4.4) olarak saptanmıştır. HKP tanısı konulan hastaların enfeksiyonları 235 hastada VİP olarak değerlendirilirken, 63 hastada VİP dışı HKP olarak yorumlanmıştır. Tanı sayısının hasta sayısından fazla olması bazı hastalarda farklı zamanlarda farklı etkenlerle yineleyen HKP tanısı konulmasından kaynaklanmaktadır. Hastaların dokuzu (%3) erken başlangıçlı HKP (≤ 4 gün), 289 tanesinin tanısı geç başlangıçlı HKP olarak değerlendirilmiştir. Ortalama olarak geç başlangıçlı HKP tanısı 22.5±15 günde konulmuştur.

Etken olarak saptanan 347 mikroorganizmadan 49'unun (%14.1) daha önceden hastanın üst solunum yollarında kolonize olduğu tespit edilmiştir. Kolonize olup daha sonra etken haline gelen bu mikroorganizmaların; 31'i *A. baumannii*, 12'si *P. aeruginosa*, dördü *K. pneumoniae*, ikisi *S. aureus* olarak tespit edilmiştir. VİP ve VİP dışı HKP hastalarında sırasıyla en sık *A. baumannii* ve *Pseudomonas* spp. etken olarak bulunmuştur. Etkenlerin HKP hastalarındaki dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

A. baumannii, *Pseudomonas* spp. ve *K. pneumoniae*'de amikasin direnç oranları sırasıyla %62, %13 ve %0, imipenem direnç oranları ise sırasıyla %100, %51.9 ve %25 olmuştur. *A. baumannii* ve *Pseudomonas* spp.'de kolistin direnç oranları sırasıyla %0 ve %1.9 bulunmuştur. En sık izole edilen etkenlerin antimikrobiyal direnç oranları Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Hastane kökenli pnömonilerde etkenlerin dağılımı

Etken	VİP	VİP dışı HKP	TOPLAM
	n(%)	n(%)	n (%)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	169 (61.4)	45 (62,5)	214 (61.6)
<i>Aspergillus spp.</i>	1 (0.3)	0	1 (0.2)
<i>Burkholderia cepacia</i>	1 (0.3)	0	1 (0.2)
<i>Candida albicans</i>	1 (0.3)	1 (1.3)	2 (0.5)
non-albicans <i>Candida</i>	4 (1.4)	1 (1.3)	5 (1.4)
<i>Citrobacter freundii</i>	1 (0.3)	0	1 (0.2)
<i>Corynebacterium spp.</i>	4 (1.4)	1 (1.3)	5 (1.4)
<i>Enterobacter spp.</i>	3 (1.0)	0	3 (0.8)
<i>Enterococcus faecium</i>	1 (0.3)	0	1 (0.2)
<i>Escherichia coli</i>	6 (2.1)	3 (4.1)	9 (2.5)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16 (5.8)	5 (6.9)	21 (6.0)
<i>Proteus mirabilis</i>	2 (0.7)	0	2 (0.5)
<i>Pseudomonas spp.</i>	47 (17.0)	8 (11.1)	55 (15.8)
<i>Serratia marcescens</i>	1 (0.3)	0	1 (0.2)
<i>Sphingomonas paucomobilis</i>	1 (0.3)	0	1 (0.2)
<i>Staphylococcus aureus</i>	12 (4.3)	6 (8.3)	18 (5.1)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	5 (1.8)	2 (2.7)	7 (2.0)
TOPLAM	275	72	347

Tablo 2. En çok etken olan bakterilerin antimikrobiyal direnç oranları (%).

Antibiyotik	<i>A. baumannii</i> n=214	<i>Pseudomonas spp.</i> n=55	<i>K. pneumoniae</i> n=21
Amikasin	62	13	0
Gentamisin	73.8	24.1	15
Seftazidim	100	35.2	25
Sefepim	100	33.3	15
Ampisilin sulbaktam	98	100	_*
Piperasilin-tazobaktam	100	_*	_*
İmipenem	100	51.9	25
Meropenem	100	61.1	20
Siprofloksasin	100	17	12.5
Levofloksasin	100	26.9	37.5
Netilmisin	48.5	19.6	0
Kolistin	0	1.9	_*

*: denenmedi.

TARTIŞMA

HKP, hastanelerde özellikle YBÜ'lerde yatan hastalarda gözlenen en önemli enfeksiyonlardan biridir (16). YBÜ'de yatış süresinin uzunluğu, invaziv işlemlerin uygulanması ve geniş spektrumlu antimikrobiallerin yaygın olarak kullanılması HE gelişimi için önemli bir risk faktörüdür (17,18). Avrupa yoğun bakım enfeksiyon prevalansı (European Prevalence of Infection in Intensive Care - EPIC) çalışmasında, yoğun bakım kaynaklı enfeksiyonların %46'sının pnömoni olduğu bildirilmiştir (19). Hastanelerin diğer birimlerinde HE oranı ortalama %5 iken, YBÜ'lerinde bu oran %50'ye kadar çıkabilmektedir (20).

HKP gelişimi için en önemli risk faktörü mekanik ventilatör ve endotrakeal entübasyondur (19). HKP'lerin en büyük bölümünü de VIP oluşturmaktadır (22). Ülkemizde Erciyes Üniversitesi YBÜ'lerinde yapılmış bir çalışmada takip edilen hastalarda gelişen HKP'lerin %76.0'sının VIP kaynaklı olduğu görülmüştür (23). Bir çalışmada HKP'lerin %86'sının mekanik ventilasyon ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (24). Bu çalışmada HKP tanısı konulan hastaların enfeksiyonlarından 235'i (%79.9) ventilatör ilişkili pnömoni (VIP), 63'ü (%21.1) VIP dışı HKP olarak değerlendirilmiştir.

HKP gelişimi için diğer önemli bir risk faktörü de YBÜ'de sıkça görülen oral kolonizasyondur. Sağlıklı kişilerde %10.0'un altında gram-negatif basillerle oral kolonizasyon görülebilirken, hastaneye yatıştan 48 saat sonra hastaların %30-40'ının kolonize olduğu, ağır ve kronik hastalığı bulunanlarda bu oranın %70-75'lere çıkabildiği bildirilmektedir (25). Orofaringeal kolonizasyon gelişen hastaların %23'ünde, kolonize olmayan hastaların ise %3,3'ünde pnömoni gelişmektedir (26). Çetin ve ark.'nın yaptığı çalışmada izlem süresince hastane enfeksiyonu atağı tespit edilmiş olan 31 hastanın 4'ünde (%12.9) aynı tür mikroorganizmanın hastanın yatışında alınan kültürlerinden en az birinden üretilmiş olması

hastane enfeksiyonlarının gelişmesinde hastanın flora bölgelerinin kolonizasyonunun da önemli olduğunu düşündürmüştür (27). Çalışmamızda kolonize olan mikroorganizmaların sıklığı; *A. baumannii* 272 (%28.3), *Pseudomonas* spp. 131 (%13.6), Enterobacteriaceae ailesi üyeleri 228 (%23.7), *Candida* spp. 138 (%14.3) olarak saptanmıştır. Etken olarak saptanan 347 mikroorganizmadan 49'nun (%14.1) daha önceden hastanın üst solunum yollarında kolonize olduğu tespit edilmiştir. Kolonize olup daha sonra etken haline gelen bu mikroorganizmaların 31'inin *A. baumannii*, 12'sinin *P. aeruginosa*, 4'ünün *K. pneumoniae*, 2'sinin *S. aureus* olduğu tespit edilmiştir. Etkenlerin %14.1'inin daha önce kolonize olan mikroorganizmalar olması orofarenkse kolonize olan mikroorganizmaların aspire edilmesine bağlı olabileceği düşünülmüştür. Özellikle *A. baumannii* ve *Pseudomonas* spp. gibi sık etken olan mikroorganizmaların kolonizasyonu hastalar için risk oluşturabildiğinden bu hastalar takip edilebilir.

YBÜ'lerdeki etken mikroorganizmaların ve antimikrobiyal duyarlılıklarını belirlemek hem ampirik tedavide yol gösterici olmak hem de mortalite ve morbiditeyi azaltmak için önemlidir (27). Yapılan çalışmalarda HKP'ye neden olan gram-negatif mikroorganizmalar içinde en sık rastlanan etkenler *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae* ve *E. coli*'dir (28, 29). Akın ve arkadaşları (30), Erciyes Üniversitesi YBÜ'de yatan 1374 hastanın 247 (%18)'inde hastane enfeksiyonu geliştiğini, HKP'nin en sık görülen hastane enfeksiyon türü olduğunu ve en sık izole edilen mikroorganizmaların *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* olduğunu bildirmişlerdir. Çakır-Edis ve ark., çalışmalarında Trakya Üniversitesi Hastanesi'nde yatan toplam 12.435 hastanın 590'ında hastane enfeksiyonu geliştiğini, bunların 111 tanesinde 146 HKP etkeni üretildiğini göstermişlerdir. Etkenler içinde en sık saptanan

Acinetobacter spp. (%44.5) iken, ikinci sıklıkta *Pseudomonas* spp. (%29.4) bildirilmiştir (31). Alp ve ark., YBÜ'deki hastane pnömonisi etkenlerini değerlendirmişler ve gram-negatif bakterilerden *A. baumannii*, *P. aeruginosa*'nın, gram-pozitif bakterilerden *S. aureus*'un en sık rastlanan etken olduğunu bildirmişlerdir (32). Bizim çalışmamızda da benzer olarak *A. baumannii* ve *Pseudomonas* spp. en sık izole edilen iki etken olup, oranları sırasıyla %61.7 ve %15.9 olarak belirlenmiştir ve gram-pozitif bakterilerden en sık *S. aureus* (%4.3) etken olarak bulunmuştur.

YBÜ'lerde geniş spektrumlu antimikrobiallerin yaygın olarak kullanılması hastalarda dirençli mikroorganizmalarla kolonizasyona ve enfeksiyona yol açmakta, sonuçta YBÜ enfeksiyonlarında tedavi güçlüğüne neden olmakta ve mortalite oranlarını artırmaktadır (7). Çakır-Edis ve ark. *Acinetobacter* türlerini en fazla imipeneme (%35) duyarlı bulmuşlardır (31). Ertürk ve ark.'nın çalışmasında *Pseudomonas* spp. ve *Acinetobacter* spp.'de imipeneme direnç oranları sırasıyla %21 ve %92, amikasin direnç oranları ise %38 ve %80 olarak bulunmuştur (8). *Klebsiella* spp.'de ise etkili antibiyotikler amikasin ve imipenem olarak belirlenmiştir (8). Erdem ve ark., YBÜ'de VIP etkeni olarak izole ettikleri *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* suşlarında seftazidim, imipenem, siprofloksasin, amikasin direnç oranlarını sırasıyla %90-59, %64-62, %80-32 ve %4-16 olarak bildirmişlerdir (33). Küme ve ark., YBÜ hastalarının alt solunum yolu örneklerinden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarında karbapenem %60, *Acinetobacter* türleri için %30.8 olarak belirlenmiştir (4). Gökaş ve ark. *P. aeruginosa* suşlarında imipenem direncini %27.2, amikasin direncini %18.1, *Acinetobacter* türlerinde sefalosporin direncini %100, karbapenem direncini %55 olarak rapor etmişlerdir (34).

Çalışmamızda *A. baumannii*'de amikasin direncini %62, sefalosporin direncini %100, imipenem direncini %100, *Pseudomonas* türlerinde amikasin direncini %13, imipenem direncini %51.9,

K. pneumoniae'de amikasin direnci %0, imipenem direnci %25 olarak belirlendi. SENTRY programının gerçekleştirdiği çalışmada; *P. aeruginosa* suşlarının en duyarlı olduğu ajan amikasin olarak belirlenmiştir (35). Küme ve ark. *Pseudomonas* suşlarına en etkili antibiyotiğin amikasin (%72.7) olduğunu saptadı (4). Benzer şekilde çalışmamızda; *Pseudomonas* suşlarına en etkili antibiyotiğin amikasin (%87) olduğu saptandı. Çakır-Edis ve ark. *Acinetobacter* spp.'ye karşı en etkili antibiyotik olan imipenem duyarlılığının %100'den %35'e düştüğünü ve 10 yıl içinde tüm antibiyotiklere karşı direncin büyük ölçüde arttığını vurgulamışlardır (31). Bizim çalışmamızda da direnç oranlarının önceki yıllarda yapılan çalışmalardan daha yüksek olduğu izlenmiştir.

Acinetobacter spp.'de karbapenem ve amikasin gibi birçok antibiyotiğe yüksek oranda direnç tespit edilmiş olması çoğul direncin bu suşlar arasında yaygın olabileceğini düşündürmektedir (36). Çoğul dirençli suşlar alt solunum yolu şüphesiyle yatan hastalarda ampirik tedavi seçeneklerini kısıtlamaktadır (37-39). *A. baumannii* suşlarına en etkin antibiyotiklerden biri olan imipenem direnç oranlarının çok yüksek olması YBÜ enfeksiyonlarında tedavi başarısını düşürmektedir. Tomak ve ark. anestezi YBÜ'de VIP etkeni *Acinetobacter* suşlarının imipenem %90.0, siprofloksasine %60 ve amikasin %57 dirençli olduğu, seftazidim, netilmisin, kolistin ve tigesikline ise %100 duyarlı olduğu, diğer gram-negatif etkenlerin karbapenemlere %100, siprofloksasine %85 duyarlılığını koruduğu tespit edilmiştir (22). Çalışmamızda *Acinetobacter* suşlarında %100 karbapenem direnci çok dikkat çekicidir. Netilmisin ve kolistine direnç oranları ise sırası ile %48.5 ve %0 olarak belirlenmiştir. Hastanemiz YBÜ'lerindeki HKP olgularında en sık etken olan *Acinetobacter* suşlarında neredeyse kolistin tek seçenek haline gelmiştir.

HKP YBÜ'lerde sık görülen mortalitesi yüksek bir hastane enfeksiyonudur. YBÜ'lerde HKP

etkeni olan mikroorganizmaları ve antimikrobiyal duyarlılıklarını belirlemek ampirik tedavide yol gösterici olduğu gibi mortalite ve morbiditeyi azaltmak için de önemlidir. HKP'nin sık görülen etkenlerinde çoklu antimikrobiyal direnci dikkat çekmektedir. Antimikrobiyal direnç süreyans çalışmaları ve hastane enfeksiyon kontrol programlarının sıkı uygulanması dirençli mikroorganizmaların yayılımını kontrol altına

alabilecektir. HKP olgularının çoğunun geç-başlangıçlı olması hastanede yatış süresinin HKP açısından önemli bir risk faktörü olduğunu göstermektedir. Ayrıca kolonize olan mikroorganizmaların zamanla etken haline dönüşebileceği unutulmamalı ve bu hastalar takip edilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Ding JG, Sun QF, Li KC, Zheng MH, Miao XH, Ni W, et al. Retrospective analysis of hospital acquired infections in the intensive care unit of a tertiary hospital in China during 2003 and 2007. *BMC Infect Dis*, 2009; 9: 115. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-9-115>.
2. Arman D. Yoğun bakım enfeksiyonlarının önemi ve epidemiyolojisi. *Yoğun Bakım Derg*, 2006; 6: 5-7.
3. Yalçın A, Şen E, Erol S, Çiledağ A, Gülbay B, Önen ZP, ve ark. Solunum yoğun bakım ünitemizdeki enfeksiyon etkenleri ve direnç sorunu. *Ortadoğu Tıp Derg*, 2013; 5 (1): 17-24.
4. Küme G, Demirci M. Yoğun bakım ünitelerindeki hastaların alt solunum yolu örneklerinden izole edilen non-fermantatif gram-negatif bakterilerin antimikrobiyal duyarlılıkları ve alt solunum yolu enfeksiyonu ile ilişkili risk faktörleri. *DEÜ Tıp Fakültesi Derg*, 2012;26(1):37-44.
5. Safdar N, Dezfulian C, Collard HR, Saint S. Clinical and economic consequences of ventilator-associated pneumonia: a systematic review. *Critical care med*, 2005; 33: 2184.
6. Yılmaz N, Köse Ş, Ağuş N, Ece G, Akkoçlu G, Kıraklı C. Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar, antibiyotik duyarlılıkları ve nozokomiyal bakteriyemi etkenleri. *ANKEM Derg*, 2010; 24 (1): 12-9.
7. Yalçın AN. Yoğun bakım ünitesinde antibiyotik kullanımı ve direnç sorununa genel bakış. *ANKEM Derg*, 2009; 23(Ek 2): 136-42.
8. Ertürk A, Çiçek AÇ, Köksal E, Köksal ZŞ, Özyurt S. Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Derg*, 2012; 26 (1): 1-9. doi:10.5222/ankem.2012.001.
9. De Champs C, Sauvart MP, Chanal C, Sirot D, Gazuy N, Malhuret R, et al. Prospective survey of colonization and infection caused by expanded-spectrum-beta-lactamase-producing members of the family Enterobacteriaceae in an intensive care unit. *J Clin Microbiol*, 1989; 27: 2887-90.
10. Lucet JC, Chevret S, Decre D, Vanjak D, Macrez A, Bedos JP, et al. Outbreak of multiply resistant Enterobacteriaceae in an intensive care unit: Epidemiology and risk factors for acquisition. *Clin Infect Dis*, 1996; 22: 430-6.
11. Fadda G, Spanu T, Ardito F, Taddei C, Santangelo R, Siddu A, et al. Antimicrobial resistance among non-fermentative gram-negative bacilli isolated from the respiratory tracts of Italian inpatients: a 3-year surveillance study. *Int J Antimicrob Agents*, 2004; 23 (3): 254-61.
12. Andriessse GI, Verhoef J. Hospital acquired pneumonia: rationalizing the approach to empirical therapy. *Treat Respir Med*, 2006; 5(1): 11-30.
13. Gales AC, Sader H HS, Jones RN. Respiratory tract pathogens isolated from patients hospitalized with suspected pneumonia in Latin America: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility profile: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2000). *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2002; 44 (3): 301-11.
14. Roby JJ, Marin de Lasela E, Poete P, Nicolas MH, Bodin L, Jarlier V, et al. Nosocomial bronchopneumonia in the critically ill. Histologic and bacteriologic aspect. *Am Rev Respir Dis*, 1992; 146 :1059-66.
15. Elatrous S , Boukef R , Ouanes Besbes L, Marghli S, Noura S, Abroug F, et al. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia: agreement between quantitative cultures of endotracheal aspiration and plugged telescoping catheter. *Intensive Care Med*, 2004; 30: 853-8.

16. Gazi H, Ecemiş T, Kurutepe S, Gürsev N, Sürücüoğlu S. Hastanede yatan hastaların alt solunum yolu örneklerinden izole edilen gram-negatif bakterilerde antimikrobiyal direnç, KLİMİK Derg, 2011; 24 (2): 112-5. doi:10.5152/kd.2011.27.
17. Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, Bruining HA, White J, Nicolas-Chanoin MH, et al. The prevalence of hospital acquired infection in intensive care units in Europe. Results of the European prevalence of infection in intensive care (EPIC) study. EPIC International Advisory Committee. JAMA. 1995; 274 (8): 639-44.
18. Legras A, Malvy D, Quinioux AI, Villers D, Bouachour G, Robert R, et al. Hospital acquired infections: prospective survey of incidence in five French intensive care units. Intensive Care Med, 1998; 24 (10): 1040-6.
19. Spencer RC. Predominant pathogens found in the European prevalence of infection in intensive care study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1996; 15 (4): 281-5.
20. Trilla A. Epidemiology of hospital acquired infections in adult intensive care units. Intensive Care Med, 1994; 20 (3): 1-4.
21. Tüfek A, Tekin R, Dal T, Tokgöz O, Doğan E, Kavak GÖ, ve ark. Reanimasyon ünitesinde on yıllık sürede gelişen hastane enfeksiyonlarının değerlendirilmesi ve literatürün gözden geçirilmesi. Dicle Tıp Derg, 2012; 39 (4):492-8.
22. Tomak Y, Ertürk A, Şen A, Erdivanlı B, Kurt A. Anestezi yoğun bakım ünitesinde ventilatör ilişkili pnömoni hızları ve etken mikroorganizmaların dağılımı. Şişli Eftal Hastanesi Tıp Bülteni, 2012; 46 (3): 115-9.
23. Alp E, Güven M, Yıldız O, Aygen B, Voss A, Doğanay M. Incidence, risk factors and mortality of hospital acquired pneumonia in intensive care units: A prospective study. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2004; 3: 17. doi: 10.1186/1476-0711-3-17.
24. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Hospital acquired infections in medical intensive care units in the United States. National Hospital acquired Infections Surveillance System. Crit Care Med, 1999; 27 (5): 887-92.
25. Scheld WM, Mandell GL. Hospital acquired pneumonia: pathogenesis and recent advances in diagnosis and therapy. Rev Infect Dis, 1991; 13 (Suppl 9): 743- 51.
26. Mayhall CG. Nosocomial pneumonia. Diagnosis and prevention. Infect Dis Clin North Am, 1997; 11 (2): 427- 57.
27. Çetin ES, Aynalı A, Demirci S, Aşçı S, Arıdoğan BC. Nöroloji yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan izole edilen hastane enfeksiyonu etkenleri. Ankara Üniv Tıp Fak Mecm, 2009; 62 (1): 13-7.
28. Gonlugur U, Bakıcı MZ, Akkurt I, Efeoglu T. Antibiotic susceptibility patterns among respiratory isolates of gram-negative bacilli in a Turkish university hospital. BMC Microbiol, 2004; 4: 32.
29. Goel N, Chaudhary U, Aggarwal R, Bala K. Antibiotic sensitivity pattern of gram negative bacilli isolated from the lower respiratory tract of ventilated patients in the Intensive care unit. Indian J Crit Care Med, 2009; 13(3): 148-51. doi: 10.4103/0972-5229.58540.
30. Akın A, Esmaoğlu Çoruh A, Alp E, Canpolat DG. Anestezi yoğun bakım ünitesinde beş yıl içerisinde gelişen nozokomiyal enfeksiyonlar ve antibiyotik direncinin değerlendirilmesi. Erciyes Tıp Derg, 2011; 33 (1): 007-016.
31. Çakır-Edis E, Çağlar T, Otkun M, Gürcan Ş, Hatipoğlu ON, Erkan T. Hastane kökenli pnömonilerde sorumlu etkenler ve antimikrobiyal direnç değişimi. Infeksiyon Derg, 2006; 20 (2): 107-10.
32. Alp E, Güven M, Yıldız O, Soylu S. Yoğun bakım ünitelerimizde nozokomiyal pnömoni insidansı, etkenleri ve antibiyotik direnci. Flora, 2004; 9 (2): 125-31.
33. Erdem I, Ozgultekin A, Sengoz Inan A, Dincer E, Turan G, Ceran N, et al. Incidence, etiology, and antibiotic resistance patterns of gram-negative microorganisms isolated from patients with ventilator-associated pneumonia in a medical-surgical intensive care unit of a teaching hospital in Istanbul, Turkey (2004-2006). Jpn J Infect Dis, 2008; 61 (5): 339-42.
34. Göktaş U, Yaman G, Karahocagil MK, Bilici A, Katı İ, Berkaş M. Anestezi yoğun bakım ünitesinde hastane enfeksiyonu etkenleri ve direnç profilinin değerlendirilmesi. Yoğun Bakım Derg, 2010; 8 (1): 13-7.
35. Jones RN, Sader HS, Beach ML. Contemporary in vitro spectrum of activity summary for antimicrobial agents tested against 18569 strains non-fermentative gram negative bacilli isolated in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2001). Int J Antimicrob Agents, 2003; 22: 551-6.
36. Günseren F, Mamikoğlu L, Öztürk S, Yücesoy M, Biberoglu K, Yuluğ N, et al. A surveillance study of antimicrobial resistance of gram negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey, J Antimicrob Chemother, 1999; 43 (3): 373-8. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/43.3.373> PMID:10223593.
37. Chan-Tompkins NH. Multidrug-resistant gram-negative infections. Bringing back the old. Crit Care Nurs Q, 2011; 34 (2): 87-100. doi: 10.1097/CNQ.0b013e31820f6e88.
38. Kallen AJ, Hidron AI, Patel J, Srinivasan A. Multidrug resistance among gram-negative pathogens that caused healthcare-associated infections reported to the national healthcare safety network, 2006-2008. Infect Control Hosp Epidemiol, 2010; 31 (5): 528-31. doi: 10.1086/652152.
39. Fujimura S, Nakano Y, Takane H, Kikuchi T, Watanabe A. Risk factors for health care-associated pneumonia: transmission of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa isolates from general hospitals to nursing homes. Am J Infect Control, 2011; 39 (2): 173-5. doi: 10.1016/j.ajic.2010.06.020.

Kocaeli il merkezinde bulunan hastanelerde çalışan hemşirelerin zoonotik hastalıklar hakkındaki bilgi düzeylerinin belirlenmesi

The determination of knowledge level of nurses working in the hospitals in the center of Kocaeli province about the zoonotic diseases

Rüştü TAŞTAN¹, Levent ALTINTAŞ², Sibel CEVİZCİ³

ÖZET

Amaç: Zoonotik hastalıklar küresel ölçekte, sağlığı sosyoekonomik yönden tehdit eden halk sağlığı sorunudur. Son çeyrek yüzyılda, giderek sayısal artış gösteren yeni çıkan enfeksiyon hastalıklarıyla birlikte bu sorun sağlık hizmetlerinde geniş bir boyut kazanmıştır. Hemşireler, toplumda ve sağlık hizmeti sunumunda "rol model" etkileri olan sağlık çalışanlarıdır. Bu çalışma; zoonozların kaynakları, bulaşma yolları ve korunma önlemleri hakkında hemşirelerin bilgi düzeylerini tespit etmek amacıyla yapılmıştır.

Yöntemler: Bu araştırma, Kocaeli merkezinde bulunan kamu ve özel hastanelerde aktif çalışan gönüllü hemşirelerle yapılmıştır. Tanımlayıcı tipte, 30 sorudan meydana gelen anket 2012'de uygulanmıştır. Toplanan veriler SPSS v.20 programıyla analiz edilmiştir.

Bulgular: Hastanelerde çalışan hemşirelerin sadece %46'sı (n=550) araştırmaya katılmıştır. Katılımcıların %70'i 26-44 yaş grubunda, %67'si 1-5 hizmet yılındaydılar. Hemşirelerin çoğu (n=380)

ABSTRACT

Objective: Zoonotic diseases are public health problems on a global scale that threaten health socioeconomically. In the last quarter of the century, this problem has gained a huge ground in health care services, along with ever increasing new infectious diseases. Nurses are health employees who have a "role model" influence in a society and in providing health services. In this study, aimed to investigate the knowledge levels of nurses about sources, contagion and prevention precautions of zoonosis.

Methods: This study was carried out with volunteer nurses who have worked in public and private hospitals in the center of Kocaeli province. The questionnaire consisting of 30 questions in descriptive type was implemented in 2012. The collected data were analyzed by using SPSS v.20 program.

Results: Only 46% (n=550) of the nurses working in the hospitals participated in the study. Of the participants, 70% were in the 26-44 age group, and 67% were in the 1-5 years of duty. Most of the

¹Kocaeli Üniversitesi, Kocaeli Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Kocaeli

²Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıp Eğitimi Anabilim Dalı, Kocaeli

³Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Çanakkale



İletişim / Corresponding Author : Rüştü TAŞTAN

Umuttepe Merkez Yerleşkesi Umuttepe/İzmit 41380 Kocaeli - Türkiye

Tel : +90 505 598 42 92 E-posta / E-mail : rustu_tastan@yahoo.com.tr

Geliş Tarihi / Received : 10.02.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 24.06.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.62134

Taştan R, Altıntaş L, Cevizci S. Kocaeli il merkezinde bulunan hastanelerde çalışan hemşirelerin zoonotik hastalıklar hakkındaki bilgi düzeylerinin belirlenmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(4): 365-378

üniversite, diğerleri Sağlık Meslek Lisesi (n=155) mezunuydular. Katılımcılar en çok (%45) virüsleri, sonra bakterileri ve parazitleri (%44) patojen etken olarak biliyordu; %73'ü hayvanlardan insanlara, %68'i insanlardan hayvanlara enfeksiyon bulaştığını, %16'sı ise hiç bulaşmadığını düşünüyordu. Bu çalışmada Salmonelloz hariç, zoonotik hastalıkların bulaşma kaynakları hakkında katılımcı eğitim düzeyleri arasında istatistiksel anlamlılık ($P>0,05$) saptanmadı. Katılımcıların %41'i sağlık bilgisi için uzmanlardan yararlanmakta, %65'i sağlık haberlerini yetersiz görmekteydi. Hemşirelerin %59'u zoonozlar konusundaki bilgi düzeylerini 'yetersiz' görmekte, %89'u ise mesleki eğitime katılmayı istemekteydi. Sürekli sosyoekonomik tehdit olan zoonozlar, insan sağlığına çok yönlü zarar veren, önemli halk sağlığı sorunudur. Etkileri bakımından toplumda sürekli risk oluşturan ve sağlık çalışanlarının iş güvenliğini tehdit eden zoonotik hastalıklar sorununun çözmek için öncelikle eğitim programlarının gözden geçirilmesi gerekmektedir.

Sonuç: Araştırma bulguları, sağlık çalışanlarının güvenliğini tehdit eden, topluma çok yönlü zarar veren zoonotik hastalıklar sorununun çözümü için yalnızca hekimler ve veteriner hekimlerin meslekler arası işbirliğinin yeterli olmayacağını işaret etmektedir. Sorunun kalıcı çözümü için 'Tek Sağlık' yaklaşımıyla hemşirelerin ve diğer sağlık çalışanlarının da katıldığı etkin sürekli mesleki eğitimlerin düzenlenmesinin gerektiği vurgulanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: bilgi düzeyi, hastalık yükü, hemşirelik hizmetleri, zoonozlar, tek sağlık

nurses (n=380) were university graduates and the rest were vocational high school for health graduates (n=155). Participants (45%) have known viruses mostly, followed bacteria and parasites (44%) as pathogenic agents. While most of the participants (73%) thought zoonotic diseases transmit from animal to humans, contrary to this, 68% thought zoonotic diseases transmit from humans to animals, and 16% believed that there was no transmission. In this study, among zoonotic diseases, except Salmonellosis, there was no statistical significance between educational levels and knowledge regarding the sources of contagion ($P>0,05$). Forty-one percent of the participants benefited from experts about health knowledge and 65% thought that health news were inadequate. Fifty-nine percent of nurses thought their zoonotic knowledge levels were inadequate, and 89% of them wanted to participate in vocational training. Zoonoses, which are a constant socioeconomic threat, are an important public health problem that harms human health in many ways. To overcome the problems of zoonotic diseases that threaten the work security of health employees and create a constant risk for the society, first of all, the education programs should be revised.

Conclusion: The survey findings indicate that only interoccupational cooperation of physicians and veterinarians are not enough to solve problem of zoonotic diseases, which threaten the security of the health workers and harm the society from multiple dimensions. It is emphasized that effective constant vocational trainings, which nurses and other health workers also attend, should be organized with 'One Health' approach, for the permanent solution to the problem.

Key Words: knowledge level, burden of disease, nursing services, zoonoses, one health

GİRİŞ

Yirminci yüzyılın son çeyreğinden beri, zoonotik hastalıkların etkileri giderek genişlemiş, değişen çevre ve yaşam koşulları nedeniyle zoonotik patojenlerin insan sağlığını tehdit potansiyelleri artmıştır (1). “İnsan-Hayvan-Çevre (İHÇ) arayüzündeki” kontamine çevrede, enfekte hayvanlar, hayvansal ürünler, araçlar ile sürekli temas, zoonotik hastalıkların meydana gelmesini sağlayan riskler barındırmaktadır (2). İnsan patojenlerinin %61’inden fazlası hayvansal kökenlidir (3). Bu nedenle, 2011 verilerine göre, Sığırların Süngerimsi Beyin Hastalığı (BSE), Şiddetli Akut Solunum Yolu Hastalığı (SARS), Kuş Gribi (H5N1) vb. zoonozların gelişmekte olan ülkelerdeki maliyeti 200 milyar \$ ve Kist Hidatik’in yol açtığı gelir kaybı yıllık 1,5 milyar \$ olarak bildirilmektedir (4). Düşük ve orta gelirli ülkelerde, 8,7 milyon insan enfeksiyonlar nedeniyle ölmektedir (2). Avrupa Birliği (AB) ve çevre ülkelerde zoonozlar ciddi sorun olarak görülmekte (5), Mavidil Hastalığı ve Şap (FMD) epidemileri “yeni” zoonotik tehdit olarak değerlendirilmektedir (6). Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) Chikungunya Ateşi gibi Vektörle Bulaşan Hastalıklar (VBH) riskini azaltmak (7) ve sosyoekonomik zararlarını önlemek için Halk Sağlığı ile Veteriner Halk Sağlığı’nın “disiplinlerarası işbirliği” önerilmektedir (5).

Türkiye’de, halk sağlığı sorunu olarak süregelen ve hayvancılık ekonomisinde kayıplara neden olan Şarbon, Bruselloz, Tüberküloz, Kist Hidatik ve Toksoplazmozun epidemiyolojisi incelenmiştir (8-14). Ayrıca, 2002’den beri yayılma eğiliminde olan ve sağlık çalışanlarının gündemini meşgul eden KKKA araştırmaları artmıştır. Halkın bilgi ve tutumunu ve hemşirelik öğrencilerinin bilgi düzeyini inceleyen araştırmalar yapılmıştır (15,16). Benzer içerikte, Ankara ve Erzurum’da halkın bilgi ve davranışları incelenmiştir (17,18). “Pandemik İnfluenza” çalışmasında Sağlık Hizmetleri Çalışanlarının (SHÇ)

“sürekli eğitim”ine vurgu yapılmaktadır (19). İstanbul’da, sokak hayvanları kaynaklı insan kuduz olguları hakkında pratisyen hekimlerin bilgi ve tutumları incelenmiştir (20).

Türkiye’de Şarbon, Bruselloz, Tüberküloz, Kuduz gibi “eski zoonozlar” ile son 15 yılda görülen Kuş Gribi, KKKA, Batı Nil Ateşi (WNF) vb. “Yeni çıkan Zoonotik Enfeksiyonların” sosyoekonomik tehditleri güncelliğini korumaktadır (16, 19, 21). Diğer taraftan, Sağlık Bakanlığı düzenlemesine göre bildirim zorunlu olan bu zoonotik enfeksiyonlar sağlığı tehdit etmekte ve SHÇ’ye mesleki risk oluşturmaktadır (22). Bu dinamik süreklilik, sağlık hizmetleri maliyeti artışına yol açmakta, küresel sağlığı tehdit etmektedir (23-25). Potansiyel salgınlardan korunmak ve sağlık hizmetleri maliyetlerini azaltmak için mesleki bilgileri güncellenen personel çalıştırılmasının önemli ve ekonomik olduğuna işaret edilmektedir (26).

Hemşirelerin sağlık hizmeti sunumunda, hasta ile hekim arasında önemli işlevleri bulunmaktadır. Günümüzde, hemşirelerin zoonotik hastalıklar bilgi düzeyi, bu bilgiyi topluma ne kadar doğru aktardıklarının bilinmesi, sağlık ekonomisi ve hizmet kalitesi bakımından önemlidir. Türkiye’de, aktif çalışan hemşirelerin zoonotik hastalıklar bilgisi düzeyini inceleyen çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışma, sağlık hizmetlerinde ve toplumda önemli “rol model” etkileri bulunan hemşirelerin, zoonotik hastalıkların kaynakları ve bulaşma yollarına ilişkin bilgi düzeyini saptamak amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma tanımlayıcı araştırma olarak planlanmıştır. Bu araştırma için geliştirilmiş anket formları Temmuz-Eylül 2012’de Kocaeli’de Kamu veya Özel Hastanelerde çalışan hemşirelere uygulanmıştır.

Kocaeli merkezinde bulunan üç Devlet, bir Eğitim ve Araştırma, bir Tıp Fakültesi Hastanesi ve dört özel hastanede “hemşire olarak çalışan” toplam (n=1200) kişi bu çalışmaya dâhil edilmiştir.

Bu çalışmada kullanılan anket formları, toplam 30 soru ve üç kısımdan oluşmaktadır. Ankette birinci kısımda, katılımcıların demografik özelliklerine (yaş, eğitim düzeyi, çalıştığı kurum), ikinci kısımda, zoonotik hastalıklar bilgisine (etkenler, kaynaklar, bulaşma yolları) ve üçüncü kısımda, zoonozlar hakkında bilgi edinme kaynakları, korunma yöntemleri ve katılımcıların Sürekli Mesleki Eğitim (SME) ihtiyacı algılarına yönelik bilgi düzeylerini sorgulayan sorular yer almıştır.

Anketin uygulanmasına başlamadan önce, Kocaeli Üniversitesi Etik Kurulu’ndan KOÜ KAEK 2012/57 numaralı onay alınmıştır. Hemşirelere çalışmanın amacı ve sonuçların değerlendirilmesine ilişkin sözlü bilgi verilmiştir. Katılımcıların soruları yanıtlaması için 20 günlük süre verilmiş, sonra anketler toplanmıştır. Araştırmanın yapıldığı hastanelerde toplam 550 (%45,8) kişiye ulaşılmıştır. Verilerin analizinde KOÜ IBM SPSS v.20 programından ve verilerin istatistik değerlendirmesinde ki-kare testinden yararlanılmıştır.

BULGULAR

Bu çalışmada katılımcı sayısı 550 ve katılım oranı %45,8 idi. Katılımcıların çoğunluğu (n=363, %69,7) 26-44 yaş grubundaydı. Hizmet süreleri bakımından çoğunluk (n=339, %66,6) 1-5 yıllık hemşireydi. Eğitim düzeyleri bakımından; Sağlık Yüksekokulu (SYO) mezunları (n=209) yaklaşık %40 oranıyla birinci, Sağlık Meslek Lisesi (SML) (n=155, %29) ikinci ve Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu (SHMYO) (n=147, %27,5) üçüncü sıradaydı (Tablo 1). Hastalık yapma potansiyeline sahip “ilk üç” mikroorganizmanın işaretlenmesinin istenildiği soruda, katılımcılar virüslere (%44,9) birinci, bakterilere ve parazitlere %44,2 ikinci sırada ve Prionlara (%12,2) ise son sırada yer vermiştir.

Zoonotik etkenler ile İHÇ arayüzündeki etkileşimlere ilişkin olarak katılımcıların çoğunluğu (%73,1) hayvanlardan insanlara enfeksiyon “bulaşır” yanıtını vermiştir. Öte yandan, insanlardan hayvanlara enfeksiyonların geçişi hakkında katılımcıların %67,6’sı “bulaşır” ve %15,3’ü “hiç bulaşmaz” yanıtını vermiştir. Zoonozların hayvansal verim kayıplarına ilişkin katılımcıların %43,3’lük çoğunluğu toplum sağlığını “olumsuz”, %28,0’inin ise “ileri derecede olumsuz” etkileyeceğini düşünmüştür. Yaklaşık %55 oranındaki katılımcı zoonozların “kısmen” yok edilemeyeceğini belirtmiştir. Zoonozlar ile mücadelede yabancıl ve evcil hayvanlar arasındaki etkileşimin kesilmesinin “kısmen önemli” olduğunu ifade edenlerin oranı %30’dur (Tablo 2).

Zoonozlar “hangi kaynaklardan insanlara en sık bulaşır?” sorusuna katılımcının verdiği yanıtlar, hastalık çeşitleri ve katılımcının eğitim düzeylerine göre şöyledir: Bruselloz için SML mezunları %61,8, üniversite mezunları %63,4 oranında “sadece süt ve süt ürünleri” ile bulaşmanın daha çok olacağını düşünmüştür. Şarbon hakkında sırasıyla %43,9 ve %54,7 oranında “sadece et ve et ürünleri” ile bulaşır yanıtı verilmiştir. Salmonelloz için sırasıyla %35,7 ve %37,3 oranında “sadece süt ve süt ürünleri” ile bulaşın daha sık görüldüğü ifade edilmiştir. Trişinelloz için SML mezunları %61,4 üniversite mezunları %56,7 oranında “sadece et ve et ürünleri” ile bulaştığını belirtmiştir. Kist Hidatik’in “birden çok yol” ile bulaştığına ilişkin SML mezunları %60,2 ve üniversite mezunları %54,6 oranında yanıt vermiştir. Toksoplazmoz için sırasıyla %30,4 ve %33,1 oranında “sadece et ve et ürünleri” ile bulaşır yanıtı verilmiştir (Tablo 3).

Küresel tehdit potansiyeline sahip SARS için katılımcılar (%54,4) “hava yolu ile bulaşır” yanıtını vermiştir. Benzer risk potansiyelindeki Kuş Gribi için %70,4 hava yolu; KKKA için % 47,6 vektörler ve % 35,8 kan/kan ürünleri yanıtını vermiştir. Kuduz için %43,8 deri ve mukozal yol ve %26,7 oranında vektörler ile bulaşır yanıtı alınmıştır. Katılımcılar, Şarbon için %30,2 ağız yolu ve %30 deri ve mukozal yol; Tüberküloz için %70,9 hava yolu; Bruselloz ve Salmonelloz için sırasıyla %61,1 ve %51,3 ağız yolu; Tularemi için %19,6 oranında vektörler ile bulaşır yanıtı verilmiştir (Tablo 4).

Tablo 1. Katılımcıların bazı demografik özellikleri

Yaş Grupları	Sayı (n)	%
18-25 arası	134	24,4
26-44	363	69,7
45 ve üstü	24	6,4
Yaş grubunu bildirmeyen	29	5,2
İşyerinde Çalışma Süresi (yıl)		
1-5	339	66,6
6-10	88	17,3
11'den çok	82	16,1
Çalışma süresini bildirmeyen	41	7,4
Çalıştığı Kurum		
Devlet Hastanesi	180	33,2
Üniversite Hastanesi	100	18,50
Özel Hastanesi	109	20,1
Eğitim ve Araştırma Hastanesi	153	28,2
Çalıştığı kurumu bildirmeyen	8	1,5
Eğitim Düzeyi*		
Sağlık Meslek Lisesi (SML)	155	29,0
Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu (SHMYO)	147	27,5
Sağlık Yüksekokulu (SYO)	209	39,1
Yüksek Lisans (YL)	24	4,5
Eğitim düzeyini bildirmeyen	15	2,7

*Sağlık Meslek Lisesi (SML) mezunları toplamı: 155
 Üniversite mezunları (SYO, SHMYO, YL) toplamı: 380
 Öğrenim düzeyini belirtilmeyenlerin toplamı: 15 kişi

Tablo 2. Katılımcıların zoonotik hastalıklar hakkında genel bilgi düzeyleri

Sorular	Yanıtlar	Sayı (n)	%
Hayvanlardan insanlara hastalık bulaşır mı? Bulaşır (n=517) %94 Bulaşmaz (n=3) %0,5	Hiç bulaşmaz	3	0,5
	Sıklıkla bulaşır	248	45,1
	Nadir Bulaşır	115	20,9
	Her zaman bulaşır	154	28,0
	Fikrim yok	5	0,9
	Yanıtlamayanlar	25	4,5
İnsanlardan hayvanlara hastalık bulaşır mı? Bulaşır (n=372) %67,6 Bulaşmaz (n=84) %15,3	Hiç bulaşmaz	84	15,3
	Nadir Bulaşır	268	48,7
	Sıklıkla bulaşır	45	8,2
	Her zaman bulaşır	59	10,7
	Fikrim yok	61	11,1
	Yanıtlamayanlar	33	6,0
Zoonotik hastalıklardan kaynaklanan çiftlik hayvanları verim kayıpları ile aile bütçelerinin ve/veya ekonomik dengelerin bozulması toplum sağlığını ne derecede etkiler?	İleri derecede olumsuz etkiler	154	28,0
	Olumsuz etkiler	238	43,3
	Etkisi olmaz	5	0,5
	Fikrim yok	83	15,1
	Yanıtlamayanlar	70	12,7
Zoonotik hastalıklar yok edilebilir veya ortadan kaldırılabılır mi?	Evet	67	12,2
	Hayır	83	15,1
	Kısmen	302	54,9
	Bilmiyorum	38	6,9
	Yanıtlamayanlar	59	10,7
Zoonotik hastalıklar ile mücadelede evcil hayvanların itlaf edilmesi sizce doğru mudur?	Evet	35	6,4
	Hayır	298	54,2
	Kısmen	104	18,9
	Bilmiyorum	57	10,4
	Yanıtlamayanlar	56	10,2
Zoonotik hastalıklarla mücadelede yaban hayvanları ile evcil hayvanlar arasındaki ilişkinin kesilmesi sizce ne derece önemlidir?	İleri derecede önemlidir	71	12,9
	Önemlidir	149	27,1
	Kısmen Önemlidir	164	29,8
	Fikrim yok	108	19,7
	Yanıtlamayanlar	58	10,5

Tablo 3. Katılımcıların zoonozların bulaşma kaynaklarına ilişkin bilgi ve eğitim düzeyleri

Zoonotik Hastalıklar	Katılımcı Eğitim Düzeyi	Sadece Et ve Et Ürünleri		Sadece Süt ve Süt Ürünleri		Birden Çok Yolla bulaş		Toplam*		p**
		(n)	%	(n)	%	(n)	%	(n)	%	
Bruselloz	Lise	26	18,1	89	61,8	29	20,1	144	28,2	0,194
	Üniversite	45	12,3	232	63,4	89	24,3	366	71,8	
Şarbon	Lise	61	43,9	9	6,5	69	49,6	139	28,8	0,560
	Üniversite	188	54,7	26	7,6	130	37,8	344	71,2	
Salmonelloz	Lise	41	31,8	46	35,7	42	32,6	129	28,5	0,020#
	Üniversite	65	20,1	121	37,3	138	42,6	324	71,5	
Listeriyoz	Lise	27	32,1	27	28,6	33	39,3	84	30,7	0,175
	Üniversite	53	27,9	37	19,5	99	52,1	190	69,7	
Stafilokokkoz	Lise	29	27,4	12	11,3	65	61,5	106	30,4	0,176
	Üniversite	57	23,5	47	19,3	139	57,2	243	69,6	
Tüberküloz	Lise	12	9,5	2	1,6	112	88,9	126	29,2	0,145
	Üniversite	35	11,4	17	5,6	254	83,0	306	70,8	
Trişineloz	Lise	51	61,4	8	9,6	24	28,9	83	28,3	0,630
	Üniversite	119	56,7	18	8,6	73	34,8	210	71,7	
Ekinokokkoz	Lise	42	35,6	5	4,2	71	60,2	118	27,3	0,575
	Üniversite	129	41,0	14	4,4	172	54,6	315	72,7	
Toksoplazmoz	Lise	38	30,4	9	7,2	78	62,4	125	29,5	0,436
	Üniversite	99	33,1	31	10,4	169	56,5	299	70,5	

* Sadece soruyu yanıtlayan kişi sayıları verilmiştir.

** P<0,05

Salmonella spp. Bulaşma kaynakları hakkında Üniversite ve SML mezunları arasındaki bilgi düzey farklılığı ile ilgili istatistiksel anlamlılık açıklanamamıştır.

Tablo 4. Katılımcıların Zoonotik Hastalıkların Bulaşma Yollarına İlişkin Bilgileri

Zoonotik Hastalıklar ve Bulaşma Yolları	Ağız Yolu		Hava Yolu		Deri ve Mukozal Yol		Kan ve Kan Ürünleri		Cinsel Temas		Vektörler (Sinek, Kene)		Herhangi Bir Bulaş Yolunu İşaretlemeyen	
	(n)	%	(n)	%	(n)	%	(n)	%	(n)	%	(n)	%	(n)	%
SARS	49	8,9	299	54,4	42	7,6	24	4,4	11	2,0	16	2,6	109	19,8
Şarbon	166	30,2	140	25,5	198	36,0	33	6,6	7	1,3	35	6,4	0	0
Kuş Gribi	120	21,8	387	70,4	90	16,4	42	7,6	7	1,3	34	6,2	0	0
Listeriyoz	103	18,7	33	6,0	40	7,3	19	3,5	4	0,7	36	6,5	315	57,2
Q-Ateşi	38	6,9	88	16,0	42	7,6	36	6,5	2	0,4	59	10,7	285	51,8
Psittakoz	47	7,8	65	11,8	30	5,5	11	2,3	6	1,1	33	6,0	358	65,0
HPS	30	5,5	58	10,5	44	8,0	26	4,6	7	1,3	93	16,9	292	53,0
Tüberküloz	104	18,9	390	70,9	61	11,1	40	7,3	7	1,3	7	1,3	0	0
Bruseloz	336	61,1	32	5,8	51	9,3	28	5,1	9	1,6	16	2,9	78	14,1
Batı Nil Ateşi	18	3,3	36	6,5	32	5,8	37	6,7	8	1,5	114	20,7	305	54,4
KKKA	15	2,7	50	9,1	148	26,9	197	35,8	12	2,2	262	47,6	0	0
Kuduz	62	11,3	19	3,5	241	43,8	98	17,8	4	0,7	147	26,7	0	0
Kist Hidatik	263	47,8	95	17,3	73	13,3	23	4,2	3	0,5	52	9,5	41	7,4
Toksoplazmoz	204	37,1	30	5,5	56	10,2	49	8,9	9	1,6	23	4,2	179	32,5
Kampilobakteriyoz	128	23,3	20	3,6	42	7,6	17	2,2	3	0,5	14	2,5	326	59,2
Salmonelloz	282	51,3	16	2,9	34	6,2	10	1,1	2	0,4	19	3,5	187	34,0
BSE	248	45,1	19	3,5	46	8,4	28	5,1	4	0,7	27	4,9	178	32,3
Şark Çıbanı	24	4,4	21	3,8	193	35,1	29	5,3	11	2,0	76	13,8	196	35,6
Tularemi	74	13,5	37	6,7	63	11,5	47	8,5	10	1,8	108	19,6	211	38,3
Leptospiroz	52	9,5	16	2,9	69	12,5	38	6,9	10	1,8	60	10,6	305	55,4

°Anket uygulamasında her katılımcıya birden çok bulaş yolu işaretleme fırsatı verilmiştir. Bu nedenle bazı hastalıklar için işaretlenen toplam bulaş yolu sayıları, araştırma katılımcı sayısından (n=550) fazla görülmektedir.

BSE: Bovine Spongiform Encephalopathy (Sığırların Süngerimsi Ensefalopatisi)

HPS: Hantavirus Pulmoner Sendromu (Hantavirus Pulmoner Sendromu)

KKKA: Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi

SARS: Severe Acute Respiratory Syndrome (Şiddetli Akut Solunum Yolu Sendromu)

Anketin son bölümünde katılımcıların zoonozlar hakkında “bilgi edinme kaynakları” ve SME gereksinimi algıları saptanmaya çalışılmıştır. Bilgi kaynağı veya “öğrenme aracı” olarak katılımcıların en çok (% 40,5) “uzman kişilerden” ve % 27,9 “internetten”, en az “televizyondan” (%0,4) yararlandıkları anlaşılmıştır. Kitle İletişim Araçlarında yayımlanan sağlık haberlerini katılımcıların %65’i “yetersiz”, %34,2’si “kesinlikle yetersiz” bulmuştur. Katılımcılar zoonotik hastalıklar hakkında %59 “yetersiz”, %22 “kesinlikle yetersiz” ve %36 ise “yeterli”, düzeyde bilgili olduğunu düşünmüştür. Zoonozlar hakkında yeterli bilgisi olmadığı için SME kursu, çalıştay vb. etkinliklere katılmayı düşünen katılımcıların oranı %89 bulunmuştur. Öte yandan, zoonozlar hakkında “yeterli bilgiye sahip” olduğu halde, SME kursu, eğitim çalıştay etkinliklerine katılmayı olumlu bulanlar %80, olumlu bulmayanlar ise %20 oranında tespit edilmiştir (Tablo 5).

TARTIŞMA

Son yarım yüzyılda, fazlaca değişim gösteren ekolojik ve antropojenik faktörler nedeniyle zoonotik hastalıkların toplumu tehdit potansiyeli artmakta ve halk sağlığındaki “sorunsal yeri” giderek genişlemektedir (1, 2, 6, 21, 26-28). İnsan patojenlerinin %61’den fazlasının hayvansal kökenli olması ve önlenemez sayıda “yeni patojenlerin” tanımlanması, süregelen zoonotik tehditlerin ciddiyetini ve sosyoekonomik zararlarını ortaya koymaktadır (3, 27, 29-32).

Benzer şekilde, Türkiye’de tehditkar potansiyelini hala koruyan Bruselloz, Tüberküloz, Şarbon, Kuduz, Kist Hidatit, Toksoplazmoz, gibi zoonotik enfeksiyonlara ilişkin çalışmalar ve sörveyans sistemleri bulunmaktadır (8-10, 12-14, 20, 21, 33). Özellikle, 15 yıldır süregelen ve SHÇ’nin “mesleki sorunu” olmayı sürdüren KKKA ile Pandemi İnfluenza gibi viral zoonoz hastalık araştırmaları artmıştır (15-17, 19, 34). Fakat Türkiye’de sağlık kurumlarında “aktif çalışan” hemşirelerin zoonotik hastalık kaynakları, bulaşma yolları ve korunma hizmetleri hakkında bilgi düzeyini sorgulayan çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada, 26-44 yaş aralığında ve %67’si 1-5 yıllık

çalışma deneyimine sahip yaklaşık %70 katılımcı yer almıştır. Üniversite (SYO+SHMYO) mezunları yaklaşık %68, SML mezunları %30 oranında tespit edilmiştir. Bu bulgu, hastanelerde hemşirelik hizmetlerinde çalışan personelin %30 oranında daha az eğitilmiş/deneyimli olduğunu düşündürmüştür.

Bu çalışmada katılımcılar, zoonotik enfeksiyon potansiyeli bakımından virüsleri %45, bakterileri ve parazitleri %44, mantarları %20 ve prionları %12 oranında sorumlu görmüştür. Bu “potansiyel hastalık yapabilme” oranları Taylor ve ark.’nın bildirdikleri bakteri ve riketsiyalar (n=538), parazitler (n=353), mantarlar (n=307), virüsler ve prionlar (n=217) sıralamasıyla uyumlu bulunmamıştır (3). Bu uyumsuzluk, Türkiye’de son 10-15 yılda, yazılı, görsel basın ve sosyal medyada zoonotik viral hastalık (Kuş Gribi, KKKA, WNV vb.) haberlerinin, diğerlerine göre daha sık duyulmasının katılımcı kararlarında etkili olduğunu düşündürmüştür. Bulgularımız, KKKA ve Domuz Gribi çalışmalarıyla benzerlik taşımaktadır (15, 17, 19).

İnsan-Hayvan-Çevre (İHÇ) Etkileşimi; Zoonotik patojenler insan ve hayvanlar arasında çiftyönlü bulaşma özelliğindedir (30). Çalışmamızda, katılımcıların çoğu (%94) hayvanlardan insanlara enfeksiyon “bulaşır” cevabını vermiştir. Fakat 84 (%15,3) kişi de “insanlardan hayvanlara enfeksiyon hiç bulaşmaz” görüşünü bildirmiştir. Oysaki nadir de olsa Tüberküloz (*M. tuberculosis*), Stafilokok enfeksiyonları (özellikle Metisiline Dirençli *S. aureus*-MRSA suşları) ve *C. parvum* gibi patojenlerin insanlardan hayvanlara geçtiği bildirtmiştir (35). Katılımcıların %15,3 “hiç bulaşmaz” ve %11’inin “her zaman bulaşır” görüşü, güncel enfeksiyon bilgilerinin yetersiz olduğunu düşündürmüştür. Bu sonuç, %16,1 katılımcının 11 ve daha fazla hizmet yıllık hemşire olduğunun dikkate alınmasını ve SME’lerinin güncellenmesini vurgulamaktadır.

Zoonotik patojenler, insan ve evcil hayvanlarda salgınlara yol açtığından ve sağlık hizmetleri maliyetini artırdığından “ekonomik tehdit” olarak değerlendirilmektedir(4, 24, 36). Son yıllarda zoonotik enfeksiyon araştırmalarında, ekolojik ve sosyoekonomik faktörleri sorgulayan yaklaşımlar

Tablo 5. Zoonozlar hakkında bilgi edinme kaynakları ve katılımcıların sürekli mesleki eğitim algı düzeyleri

Sorular	Yanıtlar	Sayı (n)	%
Zoonotik hastalıklar ile ilgili sağlık sorununuz olduğunda ilk başvuru yaptığımız bilgi kaynağı hangisidir?	Uzman kişiler	186	40,5
	Meslektaşlarım	31	6,8
	İnternet	128	27,9
	Kitaplar	7	1,5
	Televizyon	2	0,4
	Cep telefonu	1	0,2
	Sosyal medya	5	1,1
Zoonotik hastalıklar hakkında kitle iletişim araçlarındaki sağlık haberlerinin ne derece bilgilendirici olduğunu düşünüyorsunuz? <ul style="list-style-type: none"> • Yeterli: (n= 139) % 28,8 • Yetersiz: (n= 312) % 64,6 	Kesinlikle Yeterli	7	1,4
	Yeterli	24	5,0
	Kısmen Yeterli	108	22,4
	Kısmen Yetersiz	147	30,4
	Kesinlikle Yetersiz	165	34,2
Mesleki uygulamalar sırasında zoonotik hastalıklar ile ilgili bir sorun yaşadınız mı?	Evet	124	26,8
	Hayır	336	72,8
Kendinizin zoonotik hastalıklar hakkında yeterli bilgi sahibi olduğunuzu düşünüyor musunuz? <ul style="list-style-type: none"> • Yeterli : (n=175) ≈ % 36 • Yetersiz: (n=290) ≈ % 59 	Kesinlikle Yeterli	3	0,6
	Yeterli	24	4,9
	Kısmen Yeterli	148	30,0
	Kısmen Yetersiz	182	36,8
	Kesinlikle Yetersiz	108	21,9
Zoonozlar hakkında yeterli bilgi sahibi değilseniz, mesleki eğitim etkinliklerine katılmayı düşünür müsünüz?	Evet	268	88,2
	Hayır	36	11,8
Zoonozlar hakkında yeterli bilgi sahibi olduğunuz halde, mesleki eğitim etkinliklerine katılmayı düşünür müsünüz?	Evet	135	79,9
	Hayır	34	20,1

önem kazanmıştır (23, 25, 27, 28, 36, 37). Sırasıyla, İngiltere’de BSE 13 milyar \$, Uzakdoğu’da SARS 50 milyar \$ ve ABD’de Kuş Gribi 10 milyar \$’lık mali kayıplara neden olmuştur (36). Salgınlar nedeniyle bölgesel ekonomiler etkilenmekte, sosyal düzen bozulmakta ve insanlar çok yönlü zarar görmektedir (4, 32, 36). Bu çalışmada, katılımcıların hayvansal kökenli ekonomik kayıpları %72 “olumsuz” değerlendirmesi, ekonomik farkındalık göstergesi olarak düşünülebilir. “Biyogüvenlik önlemleri” zoonotik salgınların yayılımından korunmak, enfeksiyonların mali yükünü azaltmak amacıyla geliştirilmiş olmasına karşın, katılımcıların %55’inin salgın hastalıklarda hayvan itlafını “olumsuz” değerlendirmesi düşündürücü ve araştırılması gereken bir konudur. Biyogüvenlik amacıyla, İngiltere’de Şap, Türkiye’de Kuş Gribi salgınında önemli miktarda çiftlik hayvanı itlaf edilmiştir (4, 36, 38). Şap epidemisinde 30 milyar \$, Kuş Gribi’nde ise 32,2 milyar TL gibi ekonomik kayıplar olduğu belirtilmiştir (4, 38). Salgın kaynaklı maddi kayıplar ve ekonomik yoksunluklar, bölgesel, küresel eşitsizlik ve sosyal adaletsizliklere yol açmaktadır (36). Toplumsal yoksulluk ve altyapı yetersizlikleri yeni patojenlerin ortaya çıkması ve potansiyel tehdit oluşturmalarına neden olmaktadır (25, 27, 28, 36).

Çalışmamızın bulguları, İHÇ arayüzündeki “etkileşimler” hakkında, sağlık çalışanlarının bilgi düzeylerini genelleme olanağı vermemektedir. Fakat SHÇ ile ilgili diğer araştırmalar ve bu çalışmanın bulguları “yeni ipuçları” sunmaktadır (19, 26, 34, 37). Bu nedenle, yeni zoonotik patojenlerin ortaya çıkmasını hazırlayan, potansiyel tehdit risklerini tetikleyen klimatolojik, ekolojik bozulmalar ve antropojenik değişimlerin “birikimli” sosyoekonomik yansımaları ile İHÇ arayüzündeki sürekli etkileşimleri inceleyen “disiplinlerarası araştırmalar” yapılmalıdır.

Zoonozların Bulaşma Kaynakları; Dünyanın az gelişmiş bölgelerinde ve Türkiye’de Bruselloz, Şarbon, Salmonelloz, Kist Hidatik, Kuduz, KKKA gibi zoonotik hastalıklar Halk Sağlığı açısından hala ciddi sorundur (4, 8-10, 21, 32, 33, 38, 39). Bu zoonozlar aynı zamanda, Veteriner Halk Sağlığı bakımından “sosyoekonomik” tehdit özelliğini taşımaktadır (4, 27, 31). Zoonotik patojenlerin birincil bulaşma kaynakları *Brucella* spp.; pastörize

olmamış süt ve süt ürünleri, *B. anthracis*; hasta hayvan veya kontamine çevre ve malzemeler, Tifo dışı *Salmonella* spp.; yumurta ve yumurtalı ürünler, et ve et ürünleri ve kontamine yiyecek, içeceklerdir. İnsanlara Kuduz bulaşı; şüpheli hayvan ısırması veya hasta hayvanla temas yoluyla gerçekleşir. Trişinelloz ve Ekinokokkoz; pişmemiş et ve sakatatlarla, kontamine su ve yiyeceklerin tüketilmesi ile bulaşır. Bu çalışmada, Tablo 3’te verildiği gibi Salmonelloz dışındaki hastalıkların bulaşma kaynaklarına yönelik katılımcıların eğitim düzeyleri arasında istatistiksel anlamlılık ($P>0,05$) tespit edilmemiştir. Katılımcıların Bruselloz, Tüberküloz, Trişinelloz, Ekinokokkoz, Toksoplazmoz’un birincil bulaş kaynakları hakkında bilgi düzeyleri yeterli bulunmamıştır. Üniversite mezunlarının Salmonelloz ve Şarbon için sırasıyla “süt/süt ürünlerini” ve “et/et ürünlerini” birincil bulaşma kaynağı düşünmeleri literatür verileri ile uyumlu değildir (8-10, 39). Türkiye’de insan Şarbon olgularının %96’dan fazlası Deri Şarbonu formunda görüldüğü bildirilmektedir (8-10). Buna karşın, katılımcılar %55 düzeyinde “et/et ürünleri” ile bulaşmayı birinci sırada düşünüp, kontamine çevre ve deri yoluyla bulaşın yeterince bilinmemesi, bu alanda bilgi eksikliğini düşündürmektedir. Tifo dışı *Salmonella* enfeksiyonlarında hijyenik olmayan su, kontamine çevre ve çok çeşitli bozuk gıda kaynaklı bulaşmalara bağlı salgınlar yaygındır (39). Fakat katılımcıların %37’nin “sadece süt/süt ürünleri” seçeneğini işaretlenmesi, konunun yeterince bilinmediğini, “hizmetlere ve sosyal yaşama” yanlış yansıdığını ve potansiyel risklere açık olduğunu düşündürmektedir.

Zoonozların İnsanlara Bulaşma Yolları; Geçmişten farklı olarak, son çeyrek yüzyılda insanlık, küresel sağlığı tehdit eden “yeni çıkan” zoonotik patojenler ile mücadele etmek zorunda kalmıştır. Bu patojenler insanlara ağız, hava yolu, deri ve mukozal yol, vektörler vb. yollardan “doğrudan” ve/veya “dolaylı temas” ile bulaşmaktadır. Böylesine çok çeşitli yollarla bulaşabilen 1415’ten fazla patojenden korunma yöntemlerinden biri, bulaşma mekanizmalarına yönelik önlemler almak ve potansiyel riskleri en aza indirmektir (2-5, 9-13). Bu çalışmada tablo 4 incelendiğinde, katılımcılar SARS’ın hava yolu, Kuş Gribi’nin ağız ve hava yolu, KKKA’nın vektörler ve kan/

kan ürünleri, BNA'nın vektörler, BSE'nin ağız, Kuduzun deri ve mukozalar ile bulaştığı ifade edilmiştir. Türkiye'de henüz (2015 yılı itibarıyla) SARS ve BSE'nin insan veya hayvanlarda bildirim yapılmadığı halde, SARS (%54,4) ve BSE (%45,1) ile ilgili doğru yanıt verilmesi önemlidir. Katılımcılar Şarbon'un daha çok ağız ve deri/mukozal yol; insan tüberkülozunun hava yolu; Bruselloz ve Salmonelloz'un ağız yolu; Tularemi'nin vektörler ve ağız yolu ile bulaştığını belirtmişlerdir. Salmonelloz ve Bruselloz ile ilgili bulgular literatür ile uyumlu bulunmuştur (21, 33). Türkiye'de %96 oranında "deri şarbonu" görüldüğünü bildiren araştırmalar olmasına karşın, Şarbonun %30,2 ağız ve %36,0 deri ve mukozal yol ile bulaştığına ilişkin katılımcı görüşleri düşündürücüdür (8-10). Şarbon hakkında katılımcıların bilgi "yetersizliği", enfeksiyonlarla ilgili mesleki bilgilerin yenilenmesini göstermektedir. Bu sonuçlar, toplumu epidemik ve/veya pandemik zoonotik salgınlardan korumak, olası salgın süreçlerini etkin yönetebilmek için SHÇ'nin epidemiyolojik bilgilerinin güncellenmesine vurgu yapmaktadır.

SME Gereksinimi ve Bilgi Kaynaklarına Erişim; Dinamik özellikteki zoonotik enfeksiyonların önlenmesi ve olası risklerden toplumun korunması için, pratisyen hekimler, hemşireler, sağlık teknisyenleri ve diğer SHÇ'ları güncel SME'den geçirilmelidir. Türkiye'de ve dünyada gerçekleştirilmiş araştırmalarda, SME ile sağlık hizmetlerinde ekonomik kayıpların önlenmesi ve SHÇ'nin zoonoz kaynaklı mesleki risklerin azaltılacağı vurgulanmaktadır (7, 15, 17, 19, 22-26). Bu çalışmada, bilgi edinme kaynağı olarak katılımcıları en çok (%40,5) "uzman kişilerden" ve "internetten" (%27,9); en az "televizyondan" (%0,4) yararlanmaktadır. Bu veriler sırasıyla Yılmaz ve ark., Çilingiroğlu ve ark., ile Akkuş ve ark.'nın çalışma verileriyle uyumlu değildir (15, 17, 40).

Çünkü ilk iki araştırmada, katılımcılar pratisyen hekimler, farklı eğitim düzeyinde hemşireler ve diğer SHÇ'lerdir. Son çalışmanın katılımcıları ise bilgi için televizyondan yararlanan (%94) ve sağlık eğitimi olmayan bireylerdir. Bizim araştırmamızın katılımcıları ise yalnızca (n=550) hemşirelerdir.

Çalışmamızda, hemşirelerin %65'i kitle iletişim araçlarındaki sağlık haberlerini "yetersiz", %30'u "yeterli" bulmuştur (Tablo 5). Katılımcıların %59'u zoonozlar hakkında "yetersiz" bilgi sahibi olduğunu belirtmesine karşın, yaklaşık %12'si SME çalışmalarına katılmayı düşünmemiştir. Zoonozlar hakkında yeterli bilgisi olmadığını farkında olup da, SME etkinliklerine katılmayı isteyenler yaklaşık %89'dur. Zoonozlar hakkında "yeterli" bilgisi olduğunu düşünüp, SME katılmayı olumlu bulanlar ise %80'dir. Bu araştırma verilerine göre, zoonozlar hakkında "yeterli" bilgisi olmadığı halde, aktif çalışmayı sürdüren hemşire oranı %59'dur. Bu %59 oranındaki "bilgi yetersizliği" saptaması koruyucu sağlık hizmetleri, toplum sağlığı hizmetlerinde risk yönetimi, sağlık ekonomisi ve "verimlilik" açısından düşündürücü ve dikkat çekici olarak değerlendirilmelidir.

Sonuç olarak; ekolojik ve antropojenik faktörler nedeniyle, doğada İHÇ arayüzünde süregelen zoonotik enfeksiyonlar sosyoekonomik yönden insan sağlığını ve sağlık hizmetleri maliyetlerini olumsuz etkileyen, çok yönlü dinamik bir olgudur (4, 25, 27, 36, 37). Toplumların gönenci ve güvenliği bakımından sürekli tehditkâr potansiyeldeki zoonotik enfeksiyonlar, "mesleklerarası işbirliğini" gerektiren bölgesel, küresel bir sağlık sorunudur. Bu dinamik ve tehditkar sorunun kalıcı çözümü için yalnızca Hekimler, Veteriner Hekimler ve Çevrebilimcilerin "Tek Sağlık" yaklaşımıyla "mesleklerarası işbirliği" yapmaları yeterli değildir. Hemşireler ve diğer yardımcı sağlık çalışanlarının da mesleki eğitimlere aktif katılımı yaşamsal zorunluluktur. Sosyoekonomik tehdit olan zoonotik enfeksiyonlarla mücadelede tam başarının sağlanması ve sağlık hizmetleri maliyetlerinin azaltılması için, "güncel mesleki bilgilere sahip" sağlık personeli çalıştırılmalıdır (2, 25, 27). Sağlık insangücü eğitimi veren kurumların öğretim planlarında zoonotik enfeksiyon hastalıklarına daha geniş yer vermesi, sağlık ekonomisi ve politikalarının gereği ve bilgi toplumu olabilmenin önkoşuludur. Bu nedenle, sağlık kurumlarında mesleklerarası ve disiplinlerarası ortak SME düzenleyerek sağlık çalışanlarının bilgileri güncellenmelidir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Kocaeli Üniversitesi Etik Kurulu'nun KOÜ KAİK 2012/57 numaralı onayı ile gerçekleştirilmiştir. Yazarlar, araştırma veri girişlerini yapan H. Utku Taştan'a, anket uygulaması için Tıbbi Laboratuvar Teknikeri Nurhan Külcü ve Ali Erdal'a ve makaleye katkıları için Sayın Doç. Dr. Doğan Yüksel'e teşekkür eder.

KAYNAKLAR

1. Chomel BB, Sun, B. Zoonoses in the bedroom. *Emerg Infect Dis*, 2011; 17(2): 162-72.
2. The World Bank, People, Pathogens, and Our Planet. Vol.1, Towards a One Health Approach for Controlling Zoonotic Diseases. 2010; 1-10. http://siteresources.worldbank.org/INTARD/Resources/PPP_Web.pdf Erişim tarihi:4.2. 2016.
3. Taylor LH, Latham SM, Woolhouse ME. Risk factors for human disease emergence. *Philos Trans R Soc Lond Biol Sci*, 2001; 356(1411): 983-9.
4. The World Bank, People, Pathogens, and Our Planet. Vol.2, The Economics of One Health. 2012;1-33. <https://openknowledge.worldbank.org/handle/10986/11892> Erişim tarihi: 6.2.2016.
5. Lindgren E, Andersson Y, Suk JE, Sudre B, Semenza JC. Monitoring EU emerging infectious disease risk due to climate change. *Science*, 2012; 336 (6080): 418-9.
6. Kelly L, Brouwer A, Wilson A, Gale P, Snary E, Ross D, et al. Epidemic threats to the European Union: expert views on six virus groups. *Transbound Emerg Dis*, 2013; 60(4): 360-9.
7. Kakar M, Ramani S, Menon G, Sankle L, Giadhane A, Krishnan S. 'Zoonoses? Not sure what that is' An assessment of knowledge of zoonoses among medical students in India. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2011; 105(5): 254-61.
8. Doganay M, Metan G. Human anthrax in Turkey from 1990 to 2007. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2009; 9(2): 131-40.
9. Durmaz R, Doganay M, Sahin M, Percin D, Karahocagil MK, Kayabas U, ve ark. Molecular epidemiology of the Bacillus anthracis isolates collected throughout Turkey from 1983 to 2011. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2011; 31(10): 2783-90.
10. Özkurt Z, Parlak M, Tastan R, Dinler U, Sağlam YS, Ozyurek SF. Anthrax in Eastern Turkey,1992-2004. *Emerg Infect Dis*, 2005; 11(12): 1939-41.
11. Yüce A, Alp-Çavuş S. Türkiye'de Bruselloz: Genel Bakış. *Klinik Derg*, 2006; 19(3): 87-97.
12. Cesur S. Dünyada ve ülkemizde tüberkülozun epidemiyolojisi. *Mikrobiyol Bul*, 2004; 38(4): 461-9.
13. Yazar S, Özkan AT, Hökelek M, Polat E, Yılmaz H, Özbilge H, ve ark. Türkiye'de 2001-2005 yılları arasında kistik Ekinokokkozis. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 2008; 32(3): 208-20.
14. Akarsu GS, Elhan HA, Akarsu C. Fertil ve infertil kadınlarda *Toxoplasma gondii* seropozitifliğinin retrospektif olarak değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*, 2011; 45(1): 174-80.
15. Yılmaz R, Özçetin M, Erkorkmaz U, Ozer S, Ekici F. Public knowledge and attitude toward crimean congo hemorrhagic fever in Tokat Turkey. *Iranian J Arthropod-Borne Dis*, 2009; 3(2): 12-7.
16. Özer A, Miraloglu M, Ekerbicer HC, Cevik F, Aloglu N. Knowledge levels about crimean-congo hemorrhagic fever among midwifery and nursing students in Kahramanmaraş, Turkey. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2010; 41(1): 77-84.
17. Çilingiroğlu N, Temel F, Altıntaş H. Public's knowledge, opinions and behaviors about crimean congo hemorrhagic fever: an example from Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2010; 16 (Suppl-A): 17-22.
18. Vançelik S, Avşar Ü, Aktürk Z. Erzurum ili kırsalında halkın Kırım Kongo Kanamalı Ateşi hakkında bilgi, tutum ve davranışları. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 2012; 36(3):156-9
19. Aslan S, Gülsün S, Çıtak EC, Oncul A, Pirinccioğlu H. An inquiry of knowledge, attitudes and practices against pandemic H1N1 influenza among Turkish health care workers: Experience of a single center in Southeast of Turkey. *Afr J Microbiol Res*, 2010; 4(22): 2363-70.
20. Gönen İ, Soysal A, Topuzoğlu A, Bakır M. Clinical knowledge and attitudes of Turkish physicians toward rabies caused by animal bites. *Jpn J Infect Dis*, 2011; 64(5): 382-90.

21. İzgür M, Doğanay M. Zoonozların önemi ve genel bakış. In: Doğanay M ve Altıntaş N. Ed'ler. Zoonozlar; Hayvanlardan İnsanlara Bulaşan Enfeksiyonlar. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara. 2009: 21-32.
22. T.C. Sağlık Bakanlığı, Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi, 2004: 1-284, Ankara. http://www.istanbul.saglik.gov.tr/w/sb/bh/bildirimi_zorunlu_hastaliklar/belge/bildirim_sistemi.pdf Erişim Tarihi: 6.2.2016.
23. Christou, L. The global burden of bacterial and viral zoonotic infections. *Clin Microbiol Infect*, 2011; 17(3): 326-30.
24. Kock R, Croft S, Dixon M, Fletcher C, Good L, Guzman J, et al. Prioritising the need for new diagnostics, medicine, vaccines and management practices of zoonoses which have significant impact in the developing world. *DFID Zoonoses Report 6*, 2012; 1-89. http://r4d.dfid.gov.uk/pdf/outputs/livestock/DFID_ZOONOSES_REPORT_6_FINAL.pdf. Erişim tarihi: 6.2.2016.
25. Narrod C, Zinsstag J, Tiongco, MA. One health framework for estimating the economic costs of zoonotic diseases on society. *EcoHealth* 2012; 9(2): 150-62.
26. Snedeker KG, Anderosn ME, Sargeant JM, Weese JS. A Survey of canadian public health personnel regarding knowledge, practice and education of zoonotic diseases. *Zoonoses Public Health*, 2013; 60(7): 519-25.
27. Keusch GT, Pappaioanou M, Gonzalez MC, Scott KA, Tsai P. (Edt) Sustaining Global Surveillance and Responses to Emerging Zoonotic Diseases. 2009; 1-339. http://www.nap.edu/download.php?record_id=12625. Erişim tarihi: 6.2.2016.
28. Mackenzie JS. Responding to emerging diseases: reducing the risks through understanding the mechanisms of emergence. *WPSAR*, 2011; 2(1): 1-5.
29. Jones KE, Patel NG, Levy MA, Storeygard A, Balk D, Gittleman JL, et al. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 2008; 451(7181): 990-3.
30. World Health Organization. Report of the WHO/FAO/OIE joint consultation on emerging zoonotic diseases. 2004; 1-72. 3-5 May 2004, Geneva, Switzerland. http://whqlibdoc.who.int/hq/2004/who_cds_cpe_zfk_2004.9.pdf. Erişim Tarihi: 20.10.2014.
31. World Health Organization. Regional Meeting on Zoonotic Diseases, A Report of the Meeting. 2007; Jakarta, Indonesia, 6-8 Nov. 2007.
32. World Health Organization. Global report for research on infectious diseases of poverty, 2012. http://whqlibdoc.who.int/publications/2012/9789241564489_eng.pdf?ua=1. Erişim tarihi: 15.10. 2014 .
33. Yumuk Z, O'Callaghan D. Brucellosis in Turkey -an overview. *Int J Infect Dis*, 2012; 16, e228-e235. [http://www.ijidonline.com/article/S1201-9712\(12\)00023-9/pdf](http://www.ijidonline.com/article/S1201-9712(12)00023-9/pdf). Erişim tarihi: 10.02. 2016.
34. Akan H, Gurol Y, Izbirak G, Ozdatli S, Yilmaz G, Vitrinel, A ve ark. Knowledge and attitudes of university students toward pandemic influenza: a cross-sectional study from Turkey. *BMC Public Health*, 2010; 10: 413.
35. Messenger AM, Barnes AN, Gregory C. Gray GC. Reverse Zoonotic Disease Transmission (Zooanthroponosis): A Systematic Review of Seldom-Documented Human Biological Threats to Animal. *PLoS ONE* 9(2): e89055. doi:10.1371/journal.pone.0089055. <http://journals.plos.org/plosone/article/asset?id=10.1371%2Fjournal.pone.0089055.PDF>. Erişim tarihi: 16.5.2016.
36. Marsh.INC.The Economic and Social Impact of Emerging Infectious Disease: Mitigation through Detection, Research, and Response, 2008. http://www.healthcare.philips.com/main/shared/assets/documents/bioshield/ecoandsocialimpactofemerginginfectiousdisease_111208.pdf. Erişim tarihi: 24.10.2014.
37. John K, Kazwala R, Mfinanga GS. Knowledge of causes, clinical features and diagnosis of common zoonoses among medical practitioners in Tanzania. *BMC Infec Dis*, 2008; 8:162.
38. Anonim. Rakamsal verilerle Türkiye'de Kuş Gribi. <http://www.kusgribi.gov.tr/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFFAAAF6AA849816B2EF3F93D97214554F97#rakamsal>. Erişim Tarihi: 24 .2.2015.
39. Eşel D. İnsanlarda Salmonelloz. In: Doğanay M ve Altıntaş N (Ed'ler): Zoonozlar; Hayvanlardan insanlara bulaşan enfeksiyonlar. 2009; s.313-320, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara.
40. Akkuş Y, Karatay G, Gülmez A. Hayvancılıkla uğraşan bireylerin bruselloza ilişkin bilgi ve uygulamaları. *Kafkas J Med Sci*, 2011; 1(1): 16-20.

Comparison of conventional and rapid methods for determination of total aerobic mesophilic microorganisms and Enterobacteriaceae in poultry products

Kanatlı eti ürünlerinde toplam aerobik mezofilik mikroorganizma ve Enterobacteriaceae belirlenmesinde klasik ve hızlı yöntemlerin karşılaştırması

Çetin ERTUĞRUL¹, İbrahim ÇAKIR²

ABSTRACT

Objective: In this study, it was aimed to compare the conventional and rapid test methods in determining the numbers of both total aerobic mesophilic microorganism and Enterobacteriaceae in totally 123 poultry products which were both whole carcass and mechanically separated.

Methods: In the study, it was simultaneously used ISO 4833:2003 conventional method and TEMPO TVC rapid test method for determining the number of total aerobic mesophilic microorganism, as well as ISO 21528-2:2004 conventional method and TEMPO EB rapid test method for the enumeration of Enterobacteriaceae. According to this, it was statistically evaluated the results belonging to 100 samples in a total of aerobic mesophilic microorganism count and also 85 samples in Enterobacteriaceae count. Descriptive statistical test and F-test were performed by using office excel 2007 Software (Microsoft, Redmond, USA) at the statistical comparison of the conventional and rapid test methods. In addition, linear regression and Pearson correlation analyses were performed by using MINITAB 16 software (Minitab Inc., State College, TX, USA).

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, bütün karkas ve mekanik olarak ayrılmış 123 adet kanatlı et ürününde, toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı ve Enterobacteriaceae sayısının belirlenmesinde klasik ve hızlı test yöntemlerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmada, toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısının belirlenmesinde "ISO 4833: 2003" klasik yöntemi ve "TEMPO TVC" hızlı test yöntemi, Enterobacteriaceae sayısının belirlenmesinde ise "ISO 21528-2: 2004" klasik yöntemi ve "TEMPO EB" hızlı test yöntemi eş zamanlı olarak çalışılmıştır. Buna göre, toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayımında 100, Enterobacteriaceae sayımında ise 85 örneğe ait sonuçlar istatistikî olarak değerlendirilmiştir. Klasik ve hızlı test yöntemlerinin istatistikî olarak karşılaştırılmasında office excel 2007 (Microsoft, Redmond, ABD) programı kullanılarak, tanımlayıcı istatistik testleri ve F-testi yapılmıştır. Lineer regresyon ve Pearson korelasyon analizleri ise MINITAB 16 programı (Minitab Inc., State College, TX, ABD) kullanılarak yapılmıştır.

¹Bolu Food Control Laboratory Directorate, Bolu, Turkey

²Abant İzzet Baysal University, Faculty of Engineering and Architecture, Department of Food Engineering, Bolu, Turkey



İletişim / Corresponding Author : İbrahim ÇAKIR

Abant İzzet Baysal University, Faculty of Engineering and Architecture, Department of Food Engineering, Gölköy
14280 Bolu, Turkey Tel : +90 535 898 96 58 E-posta / E-mail : ibrahimcakir@ibu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 27.12.2015
Kabul Tarihi / Accepted : 30.06.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.98470

Ertugrul Ç, Çakır İ. Comparison of conventional and rapid methods for determination of total aerobic mesophilic microorganisms and Enterobacteriaceae in poultry products. Turk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(4): 379-388

Results: According to the results of the study, it was determined that there was no statistically significant difference between the conventional ISO 4833:2003 and TEMPO TVC methods with respect the accuracy of total aerobic mesophilic bacteria count results. Similarly, it was found that there was also no statistically significant difference between the conventional ISO 21528-2:2004 and TEMPO EB methods in terms of the accuracy of Enterobacteriaceae count results.

Conclusion: It was concluded that microbiological analysis performed by TEMPO rapid test system is more advantageous, because it is significantly decreased duration of analysis, analysis cost, ease of operation and risk of contamination according to the conventional ISO methods both the number of total aerobic mesophilic microorganism and Enterobacteriaceae counts.

Key Words: poultry, Enterobacteriaceae, total aerobic mesophilic microorganism, microbiological techniques.

Bulgular: Çalışmanın sonuçlarına göre toplam aerobik mezofilik bakteri sayım sonuçlarının doğruluğu açısından klasik ISO 4833: 2003 ve TEMPO TVC yöntemleri arasında istatistiki olarak bir farkın bulunmadığı belirlenmiştir. Aynı şekilde, Enterobacteriaceae sayım sonuçlarının doğruluğu açısından klasik ISO 21528-2: 2004 ve TEMPO EB yöntemleri arasında da istatistiki olarak bir farkın bulunmadığı tespit edilmiştir.

Sonuç: Gerek toplam aerobik mezofilik mikroorganizma, gerekse Enterobacteriaceae sayımlarında klasik ISO yöntemlerine göre, analiz süresi, analiz maliyeti, çalışma kolaylığı ve kontaminasyon riskinin önemli oranda düşük olması nedeniyle TEMPO hızlı test sistemi ile yapılan mikrobiyolojik analizlerin daha avantajlı olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: kanatlı eti, Enterobacteriaceae, toplam aerobik mezofilik mikroorganizma, mikrobiyolojik teknikler.

INTRODUCTION

Increased production and consumption of poultry products concordantly give rise to increased measures in food safety within this industry (1). This is because a majority of the cases involved in food infection and intoxication worldwide originates from poultry (2). According to the report published by FAO/WHO in 2002 (3), it was indicated that 26% of food borne epidemic diseases were due to poultry and products.

Detection of presence or a higher level of an indicator microorganism from predefined values suggests that the relevant product is produced under such conditions that can be contaminated by pathogenic and toxigenic microorganisms (4). Several

microorganisms can be used as an indicator of hygiene in poultry. More specifically, the enumeration of total aerobic mesophilic microorganism has a particular importance due to offering a more coverage of microorganisms as well as providing a general insight of hygiene about products (5).

The Enterobacteriaceae family includes many kinds of bacteria containing coliform bacteria, fecal coliforms, *Escherichia coli*, etc. as well as *Proteus* spp., *Salmonella* spp., and *Aeromonas* spp. Therefore, a close relation is found between the total counts of Enterobacteriaceae and fecal contamination. Thanks to the analyses involving Enterobacteriaceae and coliform bacteria, it becomes possible to make

an assessment on whether a food is produced under hygiene conditions or not (6).

Microbiological analysis methods can be categorized into conventional and rapid methods. Rapid detection of microbiological risk factors is important in terms of both ensuring quality assurance and protecting the public health in the food industry. For this reason, several alternative methods were developed in order to shorten the duration of analysis in food microbiology (7). Many samples can be examined in a shorter time by means of numerous automatic analysis systems, one of which is called TEMPO system, developed by bioMérieux (8). TEMPO is an automated system based on the most probable number (MPN) technique, equipped with filling, and reading units in order to detect the microorganisms used as the quality indicator. In this system, analysis can be performed by using a card comprising a total of 48 wells across three different dilution levels (9).

In this study, we aim to compare the conventional ISO methods and TEMPO rapid test methods for determining the enumeration of total aerobic mesophilic bacteria (TAMB) and Enterobacteriaceae in naturally contaminated poultry products.

MATERIALS AND METHODS

Sample Preparation

A total of 123 samples of raw poultry products either supplied as whole carcass or mechanically separated were collected from different retail markets in Bolu province of Turkey in 2011-2012, and were immediately transported in insulated cooler boxes to the laboratory, Bolu Food Control Laboratory Directorate. Samples were stored at 4°C until analysis. Naturally contaminated samples included: whole raw chicken (38), whole chicken legs (14), breast fillets (12), whole chicken wings (11), drumsticks (10), chicken thigh cutlets (10),

chicken leg quarters (7), chicken cutlets (6), chicken tenderloin (5), chicken thigh cutlets with skin (5) and deboned turkey cutlets (5). The samples arrived under cold-chain were subjected to analysis without any delay using the conventional ISO 4833 method (10) and TEMPO TVC (Total Viable Count) rapid test method (11) for determining the enumeration of TAMB, and the conventional ISO 21528-2 method (12) and TEMPO EB (Enterobacteriaceae) rapid test method (13) for determining the enumeration of Enterobacteriaceae in microbiology laboratory.

Homogenization of samples

A sample of 10 g from poultry was placed into a homogenizer bag with filter (stomacher bag) under sterile conditions and 90 mL of buffered peptone water was added into the bag, yielding a dilution ratio of 1/10. It was then homogenized for two minutes using stomacher (AES Chemunex, France), thus making an initial suspension ready. From the initial suspension, a series of dilutions (10⁻², 10⁻³) were prepared using tubes each containing 9 mL Ringer solution (Merck, Germany).

Enumeration of TAMB by conventional methods

TAMB count was performed according to procedures described in standard ISO procedure numbered ISO 4833:2003 Horizontal method for the enumeration of microorganisms (Colony-Count Technique at 30°C) (10).

Enumeration of TAMB by TEMPO TVC

3 mL of distilled sterile water was added into the lyophilized TEMPO TVC medium (bioMérieux, France), and the mixture was blended by vortex (IKA, Germany) to allow the medium dissolved. One mL of initial suspension with a dilution rate of 10⁻¹ was added into the medium ready for inoculation.

All the medium inoculated (4 mL) was filled into TEMPO TVC test cards using TEMPO filler entity. When completed the filling process, the cards were placed to incubation racks to perform the incubation process at a temperature of $30 \pm 1^\circ\text{C}$ for about 40-48 hours. At the end of the incubation, the cards were read by TEMPO reader system and the results were recorded. During this operation, the reader above scans the barcode of each card and interprets the fluorescent radiation occurred in the wells. Hence, it automatically matches the name of the sample with type of the test, dilution rate and the resulting count, followed by screening the results (11).

Enumeration of Enterobacteriaceae by conventional methods

Enterobacteriaceae counting was performed according to procedures described in standard ISO procedure numbered ISO 21528-2:2004-Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae - Chapter 2: Colony-Count Technique (12).

Enumeration of Enterobacteriaceae by TEMPO EB

Three mL of distilled sterile water was added into the lyophilized TEMPO EB medium (bioMérieux, France), and the mixture was blended by vortex (IKA, Germany) to allow the medium dissolved. One mL of initial suspension with a dilution rate of 10⁻¹ was added into the medium ready for inoculation. All the medium inoculated (4 mL) was filled into TEMPO EB test cards by using TEMPO filler entity. When completed the filling process, the cards were placed to incubation racks to perform the incubation process at a temperature of $35 \pm 1^\circ\text{C}$ about 22 - 27 hours. At the end of the incubation, the cards were read by TEMPO Reader system and the results were recorded (13).

Statistical analyses

A statistical comparison was performed between the log counts from TAMB and Enterobacteriaceae by using both methods. During statistical calculations, MS Office Excel (Microsoft, USA) was used for performing descriptive statistical tests (Anderson - Darling Test) and F-test, whereas Minitab 16 (Minitab Inc. USA) was used for linear regression analysis and Pearson correlation analyses.

RESULTS

Since the results of 23 and 38 samples out of 123 samples analyzed were not within the identifiable range (lower; not found <10 cfu/g or more; >4.9x10^{4,5,6} cfu/g) in detecting and enumerating the total aerobic mesophilic microorganisms and Enterobacteriaceae respectively; they were not taken into account of statistical calculations.

The results from the enumeration of total aerobic mesophilic microorganisms based on both methods given in Table 1.

Regarding the descriptive statistical results, a slight difference of 0.02 log cfu/g was observed between the average values, and the standard errors related to the values obtained based on both methods in the analysis of total aerobic mesophilic microorganisms counts.

F-test was performed in order to determine whether there is any difference between the variance of the results obtained. The test results are shown in Table 1. As the critical value of two-tailed F test (1.49) was more than F value (1.05), no statistically significant difference was found with a probability of 95% between the variances (0.64 and 0.61) obtained from the analyses by using both methods. As a result of Pearson correlation analysis, the coefficient of Pearson correlation between ISO 4833:2003 and TEMPO TVC methods were found to be 0.813. The results from analyses with correlation

Table 1. The number of samples used in the statistical comparison of TAMB between ISO and TEMPO TVC methods and descriptive statistical results

Sample	Number of samples analyzed	Number of data evaluated	Mean values of results (log cfu/g)	
			ISO 4833	TEMPO TVC
Whole raw chicken	38	35	4.03 ± 0.86	4.02 ± 0.83
Whole chicken legs	14	13	3.66 ± 0.56	3.70 ± 0.84
Chicken breast fillets	12	11	4.04 ± 1.13	4.19 ± 0.81
Whole chicken wings	11	2	4.90 ± 0.20	5.07 ± 0.46
Chicken drumsticks	10	10	4.29 ± 0.29	4.12 ± 0.69
Chicken thigh cutlets	10	4	4.10 ± 0.67	4.27 ± 0.50
Chicken leg quarters	7	6	4.28 ± 0.26	4.18 ± 0.27
Chicken cutlets	6	4	3.28 ± 1.09	3.30 ± 1.37
Deboned turkey cutlets	5	5	3.74 ± 0.51	3.69 ± 0.82
Chicken tenderloin	5	5	3.14 ± 0.28	3.28 ± 0.30
Chicken thigh cutlets with skin	5	5	3.98 ± 0.22	4.10 ± 0.39
Total	123	100		
Descriptive statistical results				
		Mean	3.95	3.97
		Standard deviation	0.78	0.80
		Variance	0.61	0.64
		Number of data evaluated	100	100
		Confidence level (95%)	0.15	0.16
F-test for two methods regarding the variance				
		Observation	100.00	100.00
		Df	99.00	99.00
		F	1.05	
		F critical two-tailed	1.49	

coefficient ranging from 0.75 to 1.00 indicated a high correlation between these groups compared (14). Accordingly, it is obvious that the results obtained from both methods are consistent. The following equations are deduced from the results of linear regression analysis:

\log_{10} TEMPO TVC = 0,6768 + 0,8326ISO 4833:2003 \log_{10} (Figure 1).

The results of Enterobacteriaceae count from samples are given in Table 2 according to the analyses based on both methods.

Referring to the descriptive statistical results shown in Table 2, when compared the mean values obtained from both methods, the mean value of TEMPO EB method was higher than that of ISO 21528-

2:2004 method. A difference of 0.45 log cfu/g was also observed between the mean values of both methods, with the standard deviation and variance being the same. As a result of Pearson correlation analysis, the coefficient of Pearson correlation between ISO 21528-2:2004, and TEMPO EB methods were found to be 0.822. The results from analyses with correlation coefficient ranging from 0.75 to 1.00 indicated a high correlation between these groups compared (15). Accordingly, it is obvious that the results obtained from both methods are highly consistent. The linear regression analysis yielded the following equation:

\log_{10} TEMPO EB = 0,7876 + 0,8303ISO 21528-2:2004 \log_{10} (Figure 2).

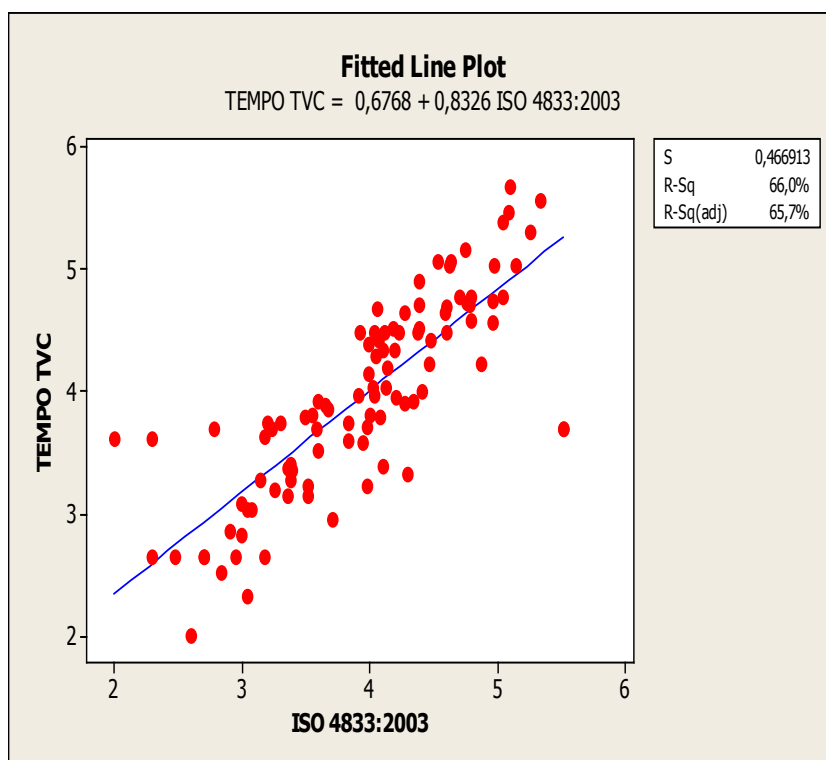


Figure 1. Linear regression of TEMPO TVC versus ISO 4833

Table 2. The number of samples used in the statistical comparison of Enterobacteriaceae counts between ISO 21528-2 and TEMPO EB methods and descriptive statistical results

Sample	Number of samples analyzed	Number of data evaluated	Mean values of results (log cfu/g)	
			ISO 21528-2	TEMPO EB
Whole raw chicken	38	26	4.03 ± 0.86	4.02 ± 0.83
Whole chicken legs	14	7	3.66 ± 0.56	3.70 ± 0.84
Chicken breast fillets	12	11	4.04 ± 1.13	4.19 ± 0.81
Whole chicken wings	11	5	4.90 ± 0.20	5.07 ± 0.46
Chicken drumsticks	10	8	4.29 ± 0.29	4.12 ± 0.69
Chicken thigh cutlets	10	4	4.10 ± 0.67	4.27 ± 0.50
Chicken leg quarters	7	7	4.28 ± 0.26	4.18 ± 0.27
Chicken cutlets	6	3	3.28 ± 1.09	3.30 ± 1.37
Deboned turkey cutlets	5	5	3.74 ± 0.51	3.69 ± 0.82
Chicken tenderloin	5	5	3.14 ± 0.28	3.28 ± 0.30
Chicken thigh cutlets with skin	5	4	3.98 ± 0.22	4.10 ± 0.39
Total	123	85		
Descriptive statistical results				
		Mean	1.98	2.43
		Standard deviation	0.68	0.68
		Variance	0.46	0.46
		Number of data evaluated	85.00	85.00
		Confidence level (95%)	0.15	0.15
F-test for two methods regarding the variance				
		Observation	85.00	85.00
		Df	84.00	84.00
		F	1.02	
		F critical two-tailed	1.54	

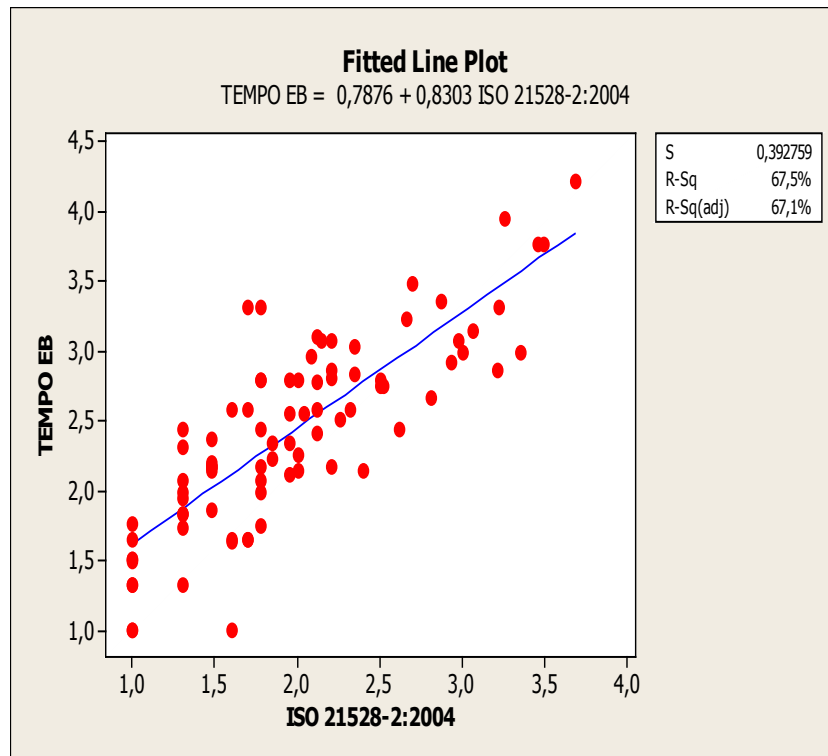


Figure 2. Linear regression of TEMPO EB versus ISO 21528

DISCUSSION

The mean values of samples analyzed according to TEMPO TVC and the conventional ISO 4833:2003 methods were found to be 3.97 log cfu/g and 3.95 log cfu/g respectively. In a study conducted by Line et al. (15), a number of 120 samples of chicken raw carcass from production line before, and after freezing process were analyzed by using TEMPO TVC and the conventional microbial colony enumeration methods. It was found that the mean values obtained by both methods were 3.09 log cfu/g and 3.02 log cfu/g before freezing, whereas they were 1.53 log cfu/g and 1.31 log cfu/g after freezing, respectively.

Linear regression and Pearson correlation analyses were performed in order to measure the compliance levels of both methods. In a study conducted by

Line et al (15) involving a number of 120 samples of chicken raw carcass from production line before and after freezing process, the carcass samples before freezing were analyzed according to TEMPO TVC and the conventional microbial colony count methods, and a high correlation coefficient of 0.972 was found. However, when using the samples after freezing, the correlation coefficient was found to be 0.710 between TEMPO TVC and the conventional rapid test methods.

Paulsen et al., (16) suggested in their study involving the analysis of a number of 180 naturally contaminated mince samples as well as samples from carcass surfaces that there was a high correlation coefficient of 0.99 between TEMPO TVC rapid test method and the conventional colony count technique.

In a study of raw meat and mince, in order to determine the number of TAMB, both the TEMPO system and German official method were used, and the results were compared. A high correlation coefficient of 0.975 was found between the results from both methods (17).

In a study conducted by Paulsen et al., (18) involving the analysis of a number of 190 samples from naturally contaminated food in terms of Enterobacteriaceae count, the mean \pm standard deviation was calculated as 2.540 ± 1.026 log cfu/g by using the conventional ISO 21528-2:2004 method, whereas it was found to be 2.456 ± 1.014 log cfu/g by using TEMPO EB rapid test method. Linear regression and Pearson correlation analyses were performed in order to measure the compliance levels of both methods.

In one study conducted by Katase and Tsumura (19), involving a number of 171 samples of artificially contaminated processed soy products for determining the count of Enterobacteriaceae, they found a higher correlation coefficient than 0.98 between TEMPO EB and ISO 21528-2:2004 methods, suggesting also a higher value as compared to our result (19).

In a study involving a linear regression analysis of a number of 47 samples using TEMPO EB and ISO 21528-2:2004 methods, Owen et al., (6) found a correlation coefficient of 0.75 between both methods, suggesting a lower value as compared to our result.

In their study, Paulsen et al., (20) used both the conventional ISO and TEMPO rapid test methods together in order to determine the number of Enterobacteriaceae in 98 various food samples. However, we tested a lower degree of 30°C as incubation temperature in this study instead of 35°C and 37°C as recommended by the above methods. Accordingly, the results obtained at 30°C were found to be higher than those performed at 37°C and 35°C using ISO and TEMPO methods, respectively.

In conclusion, considering the results of enumeration obtained from this study as well as the statistical evaluations, no statistically significant difference was found between the results obtained by the TEMPO rapid test method and the conventional ISO test method in terms of TAMB and Enterobacteriaceae counts in poultry. However, the TEMPO rapid test method has the following advantages over the conventional ISO method:

In the detection of TAMB counts, the TEMPO TVC culture medium yielded results after 40-48 hours, whereas the conventional ISO 4833:2003 method produced results only after 48-72 hours. Therefore, it makes a significant advantage especially in food plants as the analysis results can be determined one day earlier by using TEMPO system.

As to the detection of Enterobacteriaceae count, although both the TEMPO EB culture medium and ISO 21528-2:2004 yielded negative results after 24 hours, positive results could be provided again after 24 hours by TEMPO EB system while the conventional ISO method could yield only after 72 hours for verification. Therefore, the TEMPO EB system is suggested to be more advantageous in the sense of time.

The results from TEMPO system are by no means subjected to any verification and thus, they are considered to be absolute results. However, verification should be done by conventional ISO method, which increases the cost due to increased time and consumable material quantity, resulting in an increased labor.

As the culture medium is in the form of liquid in TEMPO system, the better growth of weak bacteria under stress and thus the more accurate result can be achieved. Particularly for the laboratories with an excessive number of daily samples and routine microbiological analyses, TEMPO rapid test system is considered to having the advantage over the conventional method.

REFERENCES

1. Yücel Baydur A. İstanbul'da satışa sunulan tavuk etlerinin hijyenik kalitesi üzerine araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, 2006.
2. İşeri Ö, Erol İ. Hindi etinden kaynaklanan başlıca bakteriyel infeksiyon ve intoksikasyonlar. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 2009; 56: 47-54.
3. Sezen AG. Piyasada satışa sunulan taze kanatlı et preparatlarının son kullanma tarihlerinde duysal ve mikrobiyolojik kaliteleri. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2007.
4. Montville TJ, Matthews KR. Food microbiology: an introduction. Washington DC: ASM Press, 2008.
5. Halkman HBD, Halkman AK. Indicator organisms. In: Batt CA, Tortorello ML, eds. Encyclopedia of Food Microbiology. Vol 2. 2nd ed. London: Elsevier Ltd, Academic Press, 2014: 358-63.
6. Owen M, Willis C, Lamph D. Evaluation of the TEMPO most probable number technique for the enumeration of *Enterobacteriaceae* in food and dairy products. J Appl Microbiol, 2010; 109, 1810-6.
7. Torlak E. Gıda mikrobiyolojisinde *Enterobacteriaceae* üyeleri için kromojenik ve florojenik besiyerleri. Türk Hij Den Biyol Derg, 2011; 68 (1): 49-58.
8. Lakicevic E, Velebit B, Borovic B, Janković V, Spirić D, Matekalo-Sverak V, et al. TEMPO® most probable number technique for the enumeration yeasts and molds in feed and food products. Biotechnology in Animal Husbandry, 2011; 27(3): 1329-35.
9. Anonymous. TEMPO EB Test Procedure, <https://techlib.biomerieux.com/wcm/techlib/techlib/storyboard/welcome/welcome.jsp>, Accessed: 03.05.2012.
10. Anonymous. ISO 4833:2003 - Microbiology of food and animal feeding stuffs - horizontal method for the enumeration of microorganisms - Colony-count technique at 30 °C. Geneva: International Standardization for Organization, 2003.
11. Anonymous. TEMPO TVC (Total Viable Count) Ref 80 007. bio-Me'rieux, Marcy-l'Etoile, France, 2009.
12. Anonymous. ISO 21528-2:2004 - Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* - Part 2: Colony-count method. Geneva: International Standardization for Organization, 2004.
13. Anonymous. TEMPO EB (*Enterobacteriaceae*), Ref 80003. Bio-Me'rieux, Marcy-l'Etoile, France, 2010.
14. Altınışık M. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/45-uzm-09.pdf>, Accessed: 03.05.2012.
15. Line JE, Stern NJ, Oakley BB, Seal BS. Comparison of an automated most-probable-number technique with traditional plating methods for estimating populations of total aerobes, coliforms, and *Escherichia coli* associated with freshly processed broiler chickens. J Food Protec, 2011; 74 (9): 1558-63.
16. Paulsen P, Schopf E, Smulders FJM. Enumeration of total aerobic bacteria and *Escherichia coli* in minced meat and on carcass surface samples with an automated most-probable-number method compared with colony count protocols. J Food Protect, 2006; 69 (10): 2500-3.
17. Mahler C, Stolle A. Automated cell count via Tempo® system for more efficient routine examinations in food microbiology laboratories. Fleischwirtschaft, 2006; 86 (6): 98-100.
18. Paulsen P, Schopf E, Fuga L, Smulders FJM. Enumeration of *Enterobacteriaceae* in food stuffs: effect of incubation temperatures of 30 °C as compared to 35/37 °C. Arc Lebensmittel Hyg, 2008; 59: 192-6.
19. Katase M, Tsumura K. Enumeration of microorganisms in processed soy products with an automated most probable number method compared with standard plate method. Lett Appl Microbiol, 2011; 53: 539-45.
20. Paulsen P, Borgetti C, Schopf E, Smulders FJM. Enumeration of *Enterobacteriaceae* in various foods with a new automated most-probable-number method compared with petrifilm and International Organization for Standardization Procedures. J Food Protect, 2008; 71 (2): 376-9.

Vorikonazol ile tedavi edilen bir *Aspergillus flavus* kompleks keratit olgusu

A case of *Aspergillus flavus* complex keratitis treated with voriconazole

Gülşen HAZIROLAN¹, Özlem Evren KEMER², Dilay ÖZEK², Altan AKSOY¹, Neriman AKSU¹

ÖZET

Fungal keratitlere, *Candida* spp. cinsi mayalar ile *Fusarium* spp. *Aspergillus* spp. ve *Alternaria* spp. gibi çeşitli filamentöz mantarlar etken olabilir. Fungal keratitlerde epidemiyolojinin ve predispozan risk faktörlerinin bilinmesi ve doğru laboratuvar tanı ile hastaya etkin antifungal tedavinin başlanması uygun yaklaşımdır. Fungal keratitleri tedavi etmek zordur ve intraoküler tutulum gibi ciddi bir risk faktörü taşır. Geleneksel antifungal ilaçlar genellikle iyi topikal transkorneal penetrasyon sağlar, ancak sistemik tedavi ile göz içi penetrasyonda sınırlı kalırlar. Bu yazıda, oral ve topikal vorikonazol ile başarılı şekilde tedavi edilen *A. flavus* kompleks keratit olgusu sunulmuştur. Fungal keratitler nadir gözlenirse de halen kötü prognozla seyretmektedirler. Fungal keratitlerde tanının doğru ve hızlı gerçekleştirilmesi ve tedavi seçenekleri hakkında doğru bilgiye sahip olunması önem arz eder.

Anahtar Kelimeler: *A. flavus* kompleks, fungal keratit, vorikonazol

ABSTRACT

Fungal keratitis can be caused by yeasts *Candida* spp. and various filamentous fungi such as *Fusarium* spp. *Aspergillus* spp. and *Alternaria* spp. In fungal keratitis it would be on appropriate approach to know risk factors of epidemiology and predisposing risks, and to start on effective antifungal treatment to the patient with proper laboratory diagnosis. Fungal keratitis is difficult to treat and carries a serious risk factor like intraocular involvement. Traditional antifungal drugs usually have good topical transcorneal penetration, but they are limited to intraocular penetration and systemic therapy. In this paper, it is presented a case of *A. flavus* complex keratitis successfully treated with oral and topical voriconazole. Although fungal keratitis is occurred rarely, it still has a serious prognosis. In fungal keratitis it is significant to perform accurate and rapid diagnosis and have accurate knowledge about treatment options.

Key Words: *A. flavus* complex, fungal keratitis, voriconazole

¹Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara

²Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göz Hastalıkları Kliniği, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Gülşen HAZIROLAN

Ulku Mah. Talatpaşa Bulvarı Aneah A Blok -2 Kat Tıbbi Mikrobiyoloji Lab. Ankara 06100 Ankara /
Türkiye Tel : +90 532 291 06 55 E-posta / E-mail : drgulsencetin@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 12.02.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 13.04.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.81905

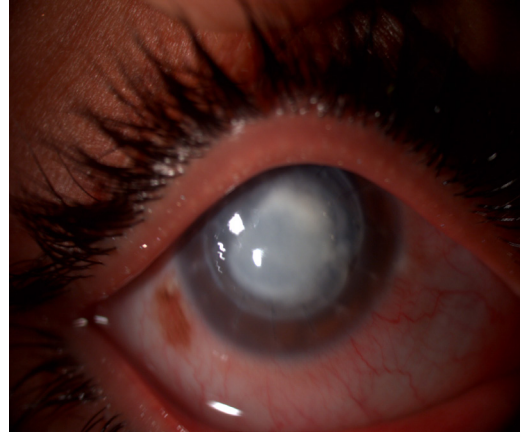
Hazirolan G, Kemer ÖE, Özek D, Aksoy A, Aksu N. Vorikonazol ile tedavi edilen bir *Aspergillus flavus* kompleks keratit olgusu Turk Hij Den Biol Derg, 2016; 73(4): 389-394

GİRİŞ

Fungal keratitler gelişmekte olan ülkelerde ve tropikal bölgelerde keratitlerin %50'sini oluştururken, gelişmiş ülkelerde keratitler %1-5 oranında fungal etkenlere bağlı gözlenmektedir (1). Fungal keratite en sık *Candida* cinsi mayalar ve *Fusarium*, *Aspergillus* cinsi hyalen küf mantarları neden olmaktadır. Bunun yanısıra *Alternaria*, *Curvularia*, *Exserohilum* gibi dematisiyöz küf mantarları da nadir olarak keratit etkeni olabilir (2). Fungal keratit olgularının tedavisinde güçlükler yaşanmaktadır ve bu olgular intraokuler yayılım gibi ciddi risk taşımaktadır. Geleneksel topikal antifungal tedaviler ile iyi bir transkorneal penetrasyon sağlanmakta fakat sistemik antifungal tedavi ile intraokular penetrasyon problemleri yaşanmaktadır. Geniş ülser alanı ve hipopiyon oluşturan *Aspergillus* enfeksiyonlarının %31'inde primer tedavi ile başarısızlık görülmüştür (2). Sık rastlanan fungal keratit etkenlerine flukonazol, itrakonazol, amfoterisin B ve ketakonazol in vitro olarak %60-82.4 oranında duyarlı saptanırken, bu etkenlere vorikonazol in vitro olarak %100 oranında duyarlı saptanmıştır (3). Çalışmamızda topikal ve intravenöz vorikonazol ile tedavi edilen, *A. flavus*'un etken olarak izole edildiği fungal keratit olgusu sunulmuştur.

OLGU

Yaklaşık 2 yıl önce Irak'ta penetran keratoplasti ameliyatı yapılan 17 yaşında bayan hasta sağ görme azlığı şikayetiyle Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları polikliniğine başvurmuştur. Yapılan oftalmik muayenesinde greft üzerinde epitel defektinin eşlik ettiği stromal infiltrasyon izlenmiştir (Şekil 1). Oftalmik B-ultrasonografi de endoftalmik bulgusu izlenmeyen hastanın göz servisine yatışı yapılmış ve hastadan korneal kazıntı örneği alınarak mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmiştir. Eş zamanlı yapılan konfokal mikroskopik bakıda mantar hifleri görülmüştür (Şekil 2). Mantar hifleri görülmesi üzerine hastaya fortifiye amfoterisin-B damla (15x1) ve fortifiye vorikonazol damla (15x1) uygulanmıştır. İntravenöz vorikonazol 2x300 mg yükleme dozu yapılan hasta vorikonazol 2x200mg i.v. vorikonazol damla (8x1) ve amfoterisin-B damla (8x1) idame tedavisi ile takip edilmiştir. Tedavinin ikinci gününde



Şekil 1. Fungal korneal ülser

hastanın şikayetinin gerilediği gözlenmiş, dördüncü günde de stromal infiltrasyon sınırlarının belirginleştiği ve stromal infiltrasyonun kısmen gerilediği tespit edilmiştir. Epitel defektinin tam kapanmaması üzerine amniyon membran transplantasyonu yapılmıştır. Kornea kültüründen *A. flavus* kompleks izole edilmesi sonucunda hastanın antifungal duyarlılık test sonuçları ile enfeksiyon hastalıkları uzmanına danışılmış, i.v. vorikonazol tedavisi ve topikal amfoterisinB tedavisi sonlandırmış, oral vorikonazol 2x200 mg ve topikal vorikonazol damla (8x1) ile tedaviye devam edilmiştir. Klinik bulgularında gerileme görülen hastanın medikal tedavisi ayaktan düzenlenerek taburcu edilmiştir.

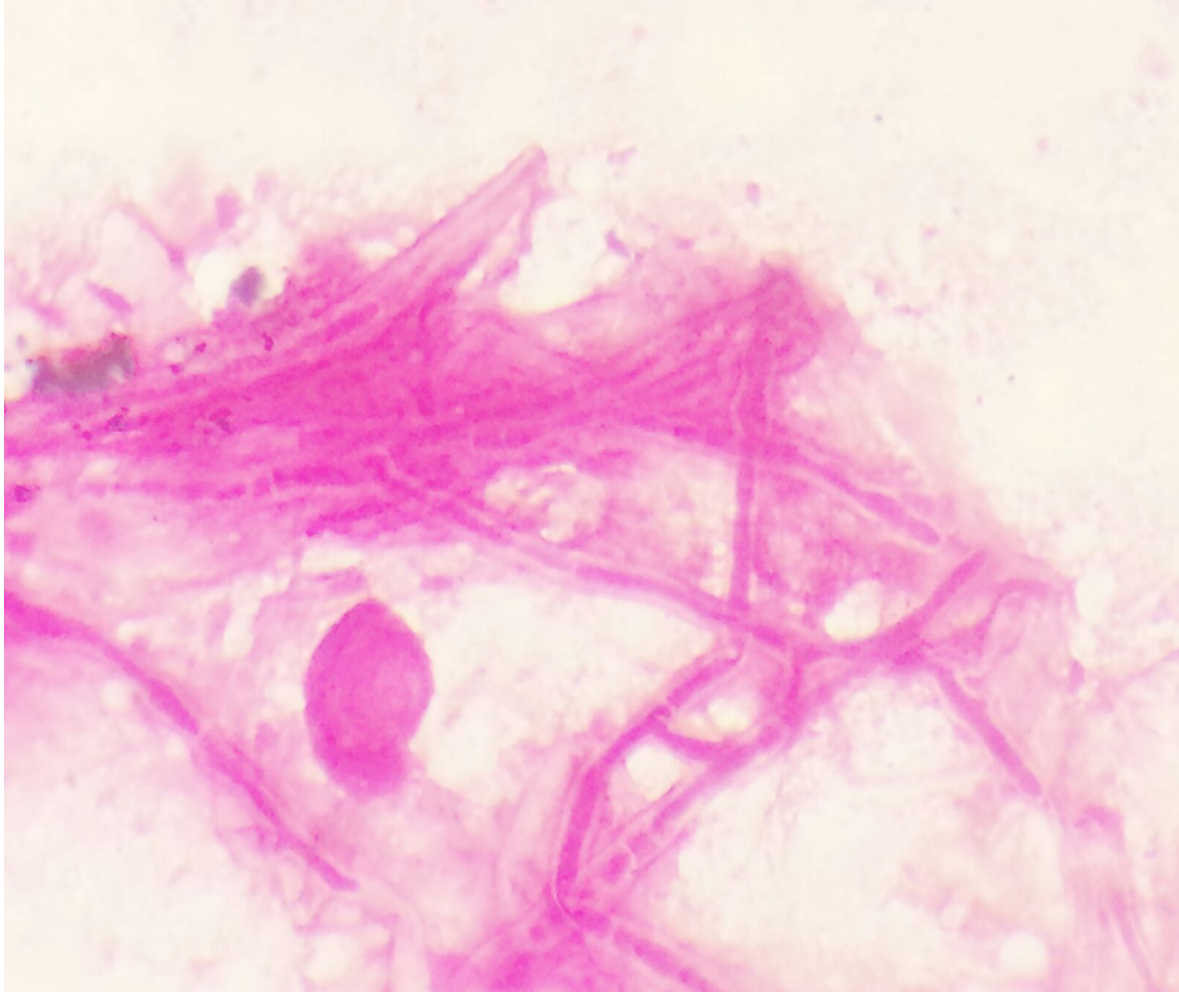


Şekil 2. Konfokal mikroskopi görüntüsü, dallanan hifal yapılar

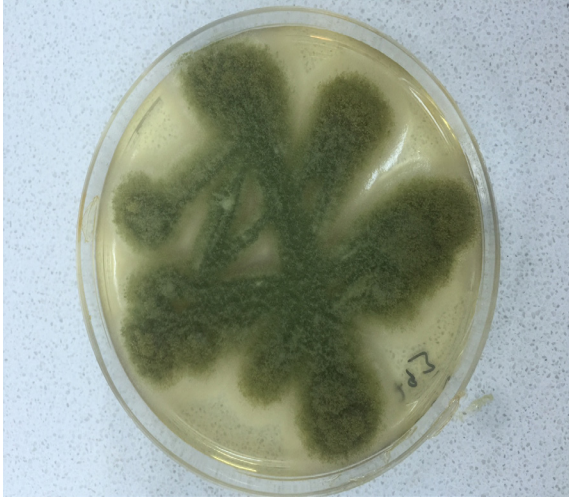
Mikrobiyolojik inceleme, antifungal duyarlılık testi

Mikolojik inceleme için korneal kazıntı örneğinden hazırlanan yayma ve kültürü Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilmiştir. Korneal kazıntı örneğinden hazırlanan yayma Gram boyama ile incelenmiştir. Gram preparatında septasız, 45° derecelik açıyla dallanan hifal yapılar gözlenmiştir (Şekil 3). Korneal kazıntı örneği Kalp-Beyin infüzyon broth (Sigma-Aldrich, ABD) besiyerine ekilmiş ve 35° C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra sıvı besiyerinden 10 µl alınıp Sabouraud

dextroz Agar (Oxoid, İngiltere), %5 koyun kanlı Columbia agar (BD, İngiltere), eosin metilen mavisi (BD, İngiltere) agar, çikolata agar besiyerlerine ekilmiş ve 35° C’de yedi gün inkübe edilmiştir. Korneal kazıntı örneğinin kültürlerinde ikinci günde üremeye başlayan küf mantarı kolonileri gözlenmiştir. SDA kültüründe üreyen küf mantarı kolonilerinden laktofenol pamuk mavisi ile preparat hazırlanmıştır. Mikroskopik incelemesinde septalı hifler, konidyafor, küresel vezikül yapısı, metula, fiyalid yapıları, bu yapıların vezikülün 3/4’ünü kapladığı gözlemlenmiştir (Şekil 4-5).



Şekil 3. Korneal kazıntı örneğinin gram boyamasında gözlenen 45 derecelik açıyla dallanmış septalı hifler



Şekil 4. *A. flavus* kompleks kolonilerinin SDA besiyerindeki görüntüsü (3. gün)



Şekil 5. *A. flavus* kompleks'in septalı hifleri, vezikül, metula, fiyalid yapıları ve vezikülün ¾'ünü kaplayan konidyaları: üç günlük kolonilerden hazırlanmıştır (X400)

Korneal kazıntı örneğinden izole edilen küf mantarı makroskobik ve mikroskobik özelliklerine dayanarak *A. flavus* kompleks olarak isimlendirilmiştir. In vitro antifungal duyarlılık testi Clinical and Laboratory Standards Institute M38-A2 klavuzu referans alınarak itraconazol, vorikonazol, posakonazol, amfoterisin B ve anidulafungin için gerçekleştirilmiştir (4).

İtraconazol, vorikonazol, posakonazol, amfoterisin B ve anidulafungin için saptanan minimum inhibitör konsantrasyon (MİK-2) değerleri sırası ile 0.5 µg/ml, 0.25 µg/ml, 0.25 µg/ml, 2 µg/ml ve 0.125 µg/ml olarak saptanmış, test edilen beş antifungal ilaca in vitro duyarlı olarak yorumlanmıştır.

TARTIŞMA

Keratitler en sık bakteriyal etkenlere bağlı gelişse de, mantarlar, viruslar ve parazitler de etken olarak izole edilmektedir. Fungal keratitlerin insidansı %6-20 arasında değişen oranlarda bildirilmektedir (5). Fungal keratitlerde en sık etken *Candida* türleridir. *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Curvularia spp.* ve *Acremonium spp.*, fungal keratitlerden izole edilen diğer mantarlardır (6). Travma, topikal kortikosteroid ve antibiyotik kullanımı, kontakt lens kullanımı, diyabet gibi sistemik bir hastalığın varlığı, fungal keratit gelişimi için bilinen risk faktörleridir. Korneanın fungal enfeksiyonu özellikle, stromal korneal epitelium hasarı olan hastalarda gelişebilmektedir (7). Bizim olgumuzda geçirilmiş penetran keratoplasti ameliyatı ve immün supresyon için düşük doz topikal steroid damla kullanımı, gelişen fungal enfeksiyon için bir risk faktörüdür.

Mohd-Tahir ve ark. retrospektif çalışmalarında, fungal keratitlerde *Aspergillus spp.* etyolojisini %9.8 oranında tespit etmişlerdir (8). Lu ve ark. retrospektif olarak fungal keratitleri değerlendirdikleri çalışmalarında da *Aspergillus spp.* etyolojisini %14.1 oranında bildirmişlerdir (9). He ve ark., yaptığı bir çalışmada keratite neden olan 139 fungal etkeninin 26'sını (%18.7) *Aspergillus* türü küf mantarı olarak tanımlamışlardır. Yirmi altı *Aspergillus* suşunun %12.2'si *A. fumigatus* %3.6'sı *A. flavus*, %2.2'si *A. niger*

ve %0.7'si *A. terreus* olarak bildirmişlerdir (10). Ülkemizde bildirilen filamentöz mantarların etken olduğu fungal keratit olgular incelendiğinde, olgu sunumların üç tanesinde *A. fumigatus*, dört tanesinde *Scedosporium apiospermum*, bir tanesinde *Fusarium solani* ve bir tanesinde *F. oxysporium* etken olarak izole edilmiştir (11-19). Ayrıca Şekeroğlu ve ark. sitolojik olarak tanısı konulmuş 20 fungal keratit olgusunu retrospektif olarak değerlendirdikleri çalışmalarında bir *Fusarium spp.* ve bir *Aspergillus spp.* olmak üzere sadece iki kültürde fungal etken izole etmişlerdir (20). Bizim olgumuzda da keratite neden olan etken *A. flavus* kompleks olarak tanımlanmıştır. Literatürde, ülkemizden bildirilen *A. flavus* kompleks ile gelişen keratit olgusuna rastlanmamıştır. Olgumuzun Irak kökenli bir hasta olmasından dolayı, fungal keratit etkeni olarak ülkemizde ilk defa *A. flavus* kompleks'in izole edilmiş olmasının bir sebebinin, son yıllarda komşu ülkelerden aldığımız göç ile enfeksiyon hastalıklarının etyolojisinde gözlenen farklılıklar ve değişim olabileceği ön görülmüştür. Bu olgu sunumu ile paylaşılan

verilerin, ülkemizde filamentöz mantarların keratit etkenlerinde epidemiyolojik durumun belirlenmesine katkı sağlayabileceği düşünülmüştür.

Fungal keratitlerin tedavisinde amaç, görme seviyesinin korunmasıdır. Tanının erken dönemde konması ve uygun antifungal tedaviye gecikilmeden başlanması iyileşmenin gerçekleşmesinde önem arz eder. Filamentöz mantarların etken olduğu süperfasiyal korneal inflamasyonda ilk tedavi seçeneği %5 natamisindir, ancak ülkemizde yoktur. Triazololler (vorikonazol, itrakonazol, flukonazol) özellikle oluşan inflamasyonun daha derin tabakalara yayıldığı vakalarda kullanılmaktadır (21). Olgumuzda da *A. flavus* kompleks ile oluşan korneal hasar vorikonazol ile başarı bir şekilde tedavi edilmiştir. Keratit nedeniyle takip edilen olgularda fungal etkenler göz önünde bulundurulmalı ve buna yönelik mikrobiyolojik incelemeler yapılmalı ve klinik laboratuvar işbirliği ile hastaya uygun antifungal tedavi en kısa sürede başlanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Lalitha P, Prajna NV, Kabra A, Mahadevan K, Srinivasan M. Risk factors for treatment outcome in fungal keratitis. *Ophthalmology*, 2006; 113(4): 526-30.
2. Qiu WY, Yao YF, Zhu YF, Zhang YM, Zhou P, Jin YQ, et al. Fungal spectrum identified by a new slide culture and in vitro drug susceptibility using etest in fungal keratitis. *Cur Eye Res*, 2005; 30(12): 1113-20.
3. Marangon FB, Miller D, Giaconi JA, Alfonso EC. In vitro investigation of voriconazole susceptibility for keratitis and endophthalmitis fungal pathogens. *Am J Ophthalmol*, 2004; 137(5): 820-5.
4. CLSI. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; Approved Standard-Second edition. CLSI document M38-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
5. Galarreta DJ, Tuft SJ, Ramsay A, Dart JK. Fungal keratitis in London: microbiological and clinical evaluation. *Cornea*, 2007; 26(9): 1082-6.
6. Słowik M, Biernat MM, Urbaniak-Kujda D, Kapelko-Słowik K, Misiuk-Hojto M. Mycotic Infections of the Eye. *Adv Clin Exp Med*, 2015; 24(6): 1113-7.
7. Khater MM, Shehab NS, El-Badry AS. Comparison of mycotic keratitis with nonmycotic keratitis: an epidemiological study. *J Ophthalmol*, Epub 2014; 254302.
8. Mohd-Tahir F, Norhayati A, Siti-Raihan I, Ibrahim M. A 5-year retrospective review of fungal keratitis at hospital universiti sains malaysia. *Interdiscip Perspect Infect Dis*, Epub 2012; 851563.
9. Lu XH, Gao Y, Zhang L, DU M, Li SX, Wang T, et al. Aetiology analyses of 334 cases fungal keratitis. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*, 2013; 49(1):12-5.
10. He D, Hao J, Zhang B, Yang Y, Song W, Zhang Y, et al. Pathogenic spectrum of fungal keratitis and specific identification of *Fusarium solani*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011; 52(5): 2804-8.

11. Direkel S, Otağ F, Aslan G, Ülger M, Emekdaş G. Identification of filamentous fungi isolated from clinical samples by two different methods and their susceptibility results. *Mikrobiyol Bul*, 2012; 46(1):65-78.
12. Erdem U, Bağkesen H, Durukan AH, Saracli MA, Hürmeric V, Bayraktar M.. Clinical follow up of a keratomycosis case with total corneal melting. *Gulhane Med J*, 2005; 47(2): 135-8.
13. Atalay MA, Koc AN. Fungal keratitis caused by *Scedosporium apiospermum*: first report from Turkey-comment. *Mikrobiyol Bul*, 2014; 48(2): 362-3.
14. Özkan A, Susever S, Erturan Z, Uzun M, Alparslan N, Öz Y, ve ark.et al.. A case of keratitis caused by *Scedosporium apiospermum*. *J Microbiol Infec Dis*, 2013; 3(1):45-8.
15. Akçay ME, Açıkgöz ZC, Can ME, Çelikkbilek N, Can DE, Çağıl N. *Scedosporium apiospermum*'a bağlı fungal keratit: ülkemizden ilk olgu. *Mikrobiyol Bul*, 2013; 47(4): 727-33.
16. Yuksel B, Calik S, Pehlivan O, Topcu B, Calik B. Topikal tedaviye dirençli *Aspergillus fumigatus* keratitinde intrastromal vorikonazol uygulaması. *Ege Tıp Derg*, 2014; 53(1): 49-52.
17. Budak BA, Baykara M, Türüdü S, Yusupov M, Çevik G, Özmen AT, ve ark. Kliniğimizde yatırılarak tedavi edilen keratit olgularının analizi. *Uludağ Üniv Tıp Fakültesi Derg*, 2011; 37 (3): 155-7.
18. Yayıoğlu RA, Turunç T, Lütfi S, Meltem Y, Akova YA. Diyabetli bir olguda *Aspergillus keratiti*. *Turk J Ophtalmol* 2005; 35: 523-6.
19. Çorabatır C, Ülger M, Yıldırım Ö, Kuş N, Otağ F. Korneal abse kültüründen *Fusarium oxysporum* izole edilen bir olgu. *Mersin Üniv Sağlık Bilim Derg*, 2013; 6(1): 26-29.
20. Şekeroğlu HT, Yar K, Damar E, Uğuz A, Yağmur M, Ersöz TR, ve ark. Sitolojik olarak tanısı konulmuş fungal keratitler: klinik özellikleri ve tedavi sonuçları-özgün araştırma *Turk J Ophtalmol*, 2010; 40(5): 255-9.
21. Kański JJ, Bowling B. *Okulistyka kliniczna*. 4th ed Wrocław, Elsevier Urban & Partner, 2013.

Alignment of new bathing water EU directive and its applications to protect public health

Halk sağlığının korunması için yeni yüzme suyu AB direktifinin uyumlaştırılması ve uygulamaları

Dilek DİKMEN¹, Hasan IRMAK¹

ABSTRACT

Introduction: The twinning project entitled "Alignment in Bathing Water Monitoring" was implemented within the framework of EU Pre-Accession Financial Assistance IPA I-2010 Programming by the Ministry of Health, Public Health Institution of Turkey together with France-Italy consortium between the I. quarter of 2013 and II. quarter of 2015. The major aims of the project was to transpose the new bathing water Directive 2006/7/EC into the Turkish National Legislation and strengthening the bathing water quality monitoring system of Ministry of Health - Public Health Institution of Turkey within the framework of the new directive.

Methods: The project was designed such as to ensure the alignment of the new bathing water Directive 2006/7/EC and preparation of the draft by-law on bathing water quality management, transition from 76/160/EEC to 2006/7/EC Directive regarding the classification and quality assessment of bathing water starting gradually with the pilot applications and then disseminating to the whole bathing areas, the practice of establishing experimental bathing water profiles in the selected areas of the pilot provinces, compiling of sets of bathing water quality data, improvement of the bathing water quality monitoring system of the Ministry of Health in the direction of 2006/7/EC Directive, improvement of the technical capacity of the Public

ÖZET

Amaç: AB Katılım Öncesi Mali Yardım Aracı IPA I-2010 Programlaması kapsamında alınan "Yüzme Suyunun İzlenmesinde Uyum" başlıklı eşleştirme projesi, Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu ile Fransa-İtalya konsorsiyomu işbirliğinde 2013 I. çeyreği ile 2015 II. çeyreği arasında yürütülmüştür. Projenin başlıca amaçları yeni yüzme suyu direktifi 2006/7/EC'nin uyumlaştırılarak ulusal mevzuata aktarılması ve bu yeni direktif doğrultusunda Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'nun yüzme suyu izleme sisteminin güçlendirilmesidir.

Yöntem: Proje; yeni yüzme suyu direktifi 2006/7/EC'nin uyumunun yapılarak Yönetmelik taslağının hazırlanması, yüzme suyunun sınıflandırılması ve kalite değerlendirmesine yönelik 76/160/EEC direktifinden 2006/7/EC direktifine geçişin aşamalı olarak pilot uygulamalar şeklinde başlayarak tüm yüzme alanlarına yaygınlaştırılması, pilot illerin seçili alanlarında deneysel profil oluşturmak üzere uygulamaların yapılması, yüzme suyu kalite veri yönetimine yönelik çalışmaların yapılması, Sağlık Bakanlığı'nın yüzme suyu kalitesi izleme sisteminin 2006/7/EC Direktifi doğrultusunda geliştirilmesi ve halk sağlığı laboratuvarlarının yeni yüzme suyu direktifi doğrultusunda yapmaları gereken

¹The Ministry of Health, Public Health Institution of Turkey, Ankara, Turkey



İletişim / Corresponding Author : Hasan IRMAK

Adnan Saygun Cad. No: 55 N Blok Kat: 2 No: 6 Sıhhiye 06420 Ankara - Türkiye

Tel : +90 312 565 53 51

E-posta / E-mail : hsn.irmak@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 31.05.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 24.07.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.83436

Dikmen D, Irmak H. Alignment of new bathing water EU directive and its applications to protect public health
Türk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(4): 395-404

Health Laboratories to perform analysis according to the new bathing water directive.

Results: The draft “By-law on bathing water quality management” has been prepared with the transposition of 2006/7/EC EU Directive by the Ministry of Health, Public Health Institution of Turkey with the contribution of the relevant institutions. Trainings and workshops were organized. Six guidance documents were prepared, published and distributed. Data quality assessment and classification practice were done at pilot provinces Antalya, Çanakkale and İstanbul.

Conclusion: The all activities given in the project contract have been successfully completed and all project mandatory results were reached. The technical and institutional capacity for the full implementation of the 2006/7/EC Directive by the Ministry of Health was improved successfully with the project.

Key Words: bathing water, public health, 2006/7/EC directive, twinning project

analizler için teknik kapasitelerini güçlendirmek üzere tasarlanmıştır.

Bulgular: 2006/7/EC Avrupa Birliği Direktifinin uyumlaştırılmasıyla “Yüzme Suyu Kalitesinin Yönetimine Dair Yönetmelik Taslağı” ilgili kurumların da katkısı ile Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu tarafından hazırlanmıştır. Eğitimler ve çalıştaylar düzenlenmiştir. Altı Rehber Kitap hazırlanmış, bastırılmış ve dağıtılmıştır. Veri kalite değerlendirmesi ve sınıflandırma pratiği, pilot iller olan Antalya, Çanakkale ve İstanbul’da gerçekleştirilmiştir.

Sonuç: Proje kontratında yer alan aktivitelerin tamamı başarıyla gerçekleştirilmiş ve tüm zorunlu hedeflere ulaşılmıştır. Proje ile Sağlık Bakanlığı’nın 2006/7/EC Direktifini tam olarak uygulaması için gerekli olan teknik ve kurumsal kapasite başarıyla geliştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: yüzme suyu, halk sağlığı, 2006/7/EC direktifi, eşleştirme projesi

INTRODUCTION

Twinning which was originally designed in 1998, is an EU institution building instrument developed by the Commission and based on partnership cooperation between public administrations of EU Member States and a Beneficiary Country for the achievement of mandatory results jointly agreed with the Commission (1, 2).

It aims to help the beneficiaries in the development of modern and efficient administrations, with the structures, human resources and management skills needed to implement the EU acquis. Twinning is an important tool to assist national administrations in reaching the required level of institutional capacity by facilitating the sharing of Member States’ experience and know-how (3).

Water-based recreation is an important component of leisure activities. Coastal waters, rivers and lakes are used for a variety of recreational activities, including swimming, diving, fishing and sailing. However, water-based recreation can also expose individuals to a variety of health hazards, ranging from exposure to potentially contaminated foodstuffs and potable water supplies, through to exposure to sunshine and ultra violet (UV) light and to bathing in polluted waters. The varied nature of the hazards to human health posed by recreational waters demands a full audit of the relative importance of the resultant health effects and the resources required to mitigate those effects (4).

The first European bathing water legislation, “Council Directive concerning the quality of bathing water 76/160/EEC” came into force in 1975. Its main objectives are to safeguard public health and protect the aquatic environment in coastal and inland areas from pollution. Bathing waters can be coastal waters or inland waters (rivers, lakes) (5, 6).

The second and the new European Legislation “Directive 2006/7/EC concerning the management of bathing water quality and repealing Directive 76/160/EEC was adopted in 2006 (7).

The new bathing water directive updates the measures of the 1975 legislation and simplifies its management and surveillance methods. It also provides a more proactive approach to inform the public about water quality using four quality categories for bathing waters as “poor”, “sufficient”, “good” and “excellent”. The Member States brought into force the laws, regulations and administrative provisions in order to comply with this Directive by 24 March 2008. A period until 31 December 2014 was given to the Member States for the implementation of it (7, 8).

The new directive is intended to be based on scientific knowledge on protecting health and the environment, as well as environmental management experience, provide better and earlier information of public about quality of bathing waters, including logos, move from simple sampling and monitoring of bathing waters to bathing quality management, and be integrated into all other EU measures protecting the quality of all waters (rivers, lakes, ground waters and coastal waters) through the Water Framework Directive 2000/60/EC. Two main parameters intestinal enterococci and *Escherichia coli* are defined for analysis, instead of nineteen in the previous directive. These parameters will be used to monitor and assess

the quality of bathing waters and to classify them. Other parameters could be taken into account, such as the presence of cyanobacteria or microalgae. Member States must monitor the bathing waters every year. The monitoring calendar should provide for at least four samples to be taken per season (except where the season is very short or where there are special geographic constraints). The sampling interval should not be longer than one month. Upon the monitoring results gathered in four years, Member States should assess the bathing waters at the end of every season. A shorter period may be acceptable in some cases. The waters are classified according to their level of quality: poor, sufficient, good or excellent, linked to clear numerical quality standards for bacteriological quality. Where water is classified as “poor”, Member States should take certain management measures, e.g. banning bathing or posting a notice advising against it, providing information to the public, and suitable corrective measures. Member States should also prepare a description of bathing waters and the potential impacts and threats to water quality, both as an information for public and as a management tool for the responsible authorities, through the so-called bathing water profiles. They could include in particular a description of the area concerned, any sources of pollution and the location of the water monitoring points. Beyond the 1976 Bathing Water Directive, the new directive ensures timely information of the public during the bathing season, with an obligation for Member States to disseminate actively and promptly information on bathing water quality. In particular, notices banning or advising against bathing should be rapidly and easily identifiable. The EU Commission adopted on the 27 May 2011 a decision establishing a symbol for information to the public on bathing water classification and any bathing prohibition. Every year the EU Commission publishes a summary report on

the quality of bathing water, based on the reports that the Member States should submit to it before the start of each bathing season (9).

Although the main objectives of the two directive 76/160/EEC and 2006/7/EC are to safeguard public health and protect environment from pollution, with the new directive, new topics such as new bathing water quality classification through the monitoring of the parameters intestinal enterococci, *Escherichia coli*, new calculation method required for the classification, bathing water profiles, compiling of bathing water quality data sets, cyanobacterial risks, information to the public, public participation, cooperation on transboundary waters were introduced (7, 10).

To form the required technical infrastructure in these subjects, to enhance the present infrastructure within the frame of the new Directive and to prepare the draft of the new by-law by doing the harmonisation studies, twinning project under the title of "Alignment in bathing water monitoring" was taken by Ministry of Health, Public Health Institution of Turkey.

The EU twinning project within the frame of EU Pre-Accession Financial Assistance IPA I - 2010 Programming was implemented with France - Italy consortium between the I. quarter of 2013 and II. quarter of 2015 (11).

Cooperation was provided between the French Ministry of Social Affairs and Health, International Office of Water (IOW), Italy Ministry of Health and Fondazione Minoprio Institute and Public Health Institution of Turkey - Environmental Health Department.

With the project it was aimed to transpose the new bathing water directive 2006/7/EC into the Turkish National Legislation and strengthening the bathing water quality monitoring system of Ministry

of Health - Public Health Institution of Turkey within the framework of the new directive.

In the broader sense the aim of the project was to contribute to the reduction of public health risks and to ensure coordination, cooperation and data sharing between institutions and organizations in bathing waters (11).

METHODS

The project was established on the 6 main targets. Result 1: Regulation - The alignment of the new bathing water directive 2006/7/EC and preparation of the draft by-law. Result 2: Classification - Transition from 76/160/EEC to 2006/7/EC Directive regarding the classification and quality assessment of bathing water starting gradually with the pilot applications and then disseminating to the whole bathing areas. Result 3: Bathing Water Profiles - Practice of establishing experimental bathing water profiles in the selected areas of the pilot provinces. Result 4: Data Management - Compiling of sets of bathing water quality data. Result 5: Monitoring - Improvement of the bathing water quality monitoring system of the Ministry of Health in the direction of 2006/7/EC Directive. Result 6: Laboratories -Improvement of the technical capacity of the Ministry of Health, Public Health Laboratories to perform analysis according to the new bathing water directive.

The method of the project implementation includes; current situation assessment of the regulations and of the applications on bathing water; evaluation of the Member State applications on 2006/7/EC Bathing Water Directive, analysis of the applications in France and in Italy as model applications, in place observations by study visits, GAP analysis, recommendations through outputs of GAP analysis, working group meetings (WGM),

inter-ministerial meetings (IMM), pilot provincial meetings (PPM), experimental data evaluation, classification, establishment of profiles practices with pilot provinces, local visits to the pilot provinces - public health directorates and public health laboratories, trainings, workshops, preparation, publication and distribution of the guidance documents, project steering committee meetings.

Antalya, Çanakkale and İstanbul were selected as the pilot provinces for practical applications. The pilot applications and the activities concerning the project results 1, 2, 3, 4, 5 were carried out jointly with Antalya, Çanakkale and İstanbul public health directorates bathing water units.

Antalya, İstanbul and Samsun public health laboratories were participated in the project as pilot laboratories for the implementation of project 6th result.

The drafting studies of the by-law was carried out by the working group which was established with the participation of Public Health Institution of Turkey - Environmental Health Department, the Ministry of Environment and Urbanization, the Ministry of Forestry and Water Affairs, the Ministry of Culture and Tourism and the Ministry of Interior.

To share the developments in the project and to discuss the cooperation between institutions in the preparation of the by-law and bathing water profiles which require joint work, inter-ministerial meetings were done with the participation of the Public Health Institution of Turkey - Environmental Health Department, Public Health Laboratories Department, Strategy Development Department, EU Coordination Department of the Ministry, the representatives of the Ministry of Forestry and Water Affairs, the Ministry of Environment and Urbanization, the Ministry of Culture and Tourism,

the Ministry of Interior, the representative of the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK), representative of Foundation for Environmental Education in Turkey (TURCEV), project team, Turkish, French and Italian project leaders. These meetings were done at the same date before the project steering committee meetings.

RESULTS

The project overall objectives was successfully achieved. The draft by-law was prepared with the transposition of 2006/7/EC EU Directive into the Turkish National Legislation. The coordination, cooperation and data sharing between institutions and organisations in bathing waters were developed. Progress directed to the importance of public health and reduction of probable public health risks was ensured.

The all project purposes were also successfully reached. A draft by-law was prepared with the transposition of 2006/7/EC EU Directive into the Turkish National Legislation. The technical capacity of the Ministry of Health - Public Health Institution of Turkey and the Public Health Directorates of the 34 Provinces were strengthened in monitoring the bathing water quality.

Current situation assessment was conducted through the presently used "By-Law on Bathing Water Quality" which was prepared in line with the EU Directive 76/160/EEC.

The draft "By-law on bathing water quality management" has been prepared with the transposition of 2006/7/EC EU Directive by the Ministry of Health, Public Health Institution of Turkey with the contribution of the relevant institutions. The comments of the institutions on the draft by-law were received. Besides, the prepared draft by-

law was evaluated and gap analysis was done by the French and Italian experts of the twinning project in view of the articles of the 2006/7/EC Directive. The improved draft by-law was worked by the working group which was established with the participation of the relevant institutions.

Comprehensive trainings were given to the technical staff of the Public Health Institution of Turkey, Environmental Health Department, Public Health Directorates of the 34 Provinces where bathing water quality monitoring activities are carried out, representatives of the relevant Ministries and organizations including Ministry of Environment and Urbanization, the Ministry of Forestry and Water Affairs, the Ministry of Culture and Tourism, the Ministry of Interior, the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) and Foundation for Environmental Education in Turkey (TURCEV). Training was given also to the technical staff of the Public Health Institution of Turkey, Public Health Laboratories Department, Consumer Safety Laboratories Department, Public Health Laboratories of the 34 provinces, concerning bathing water analysis in the direction of 2006/7/EC EU Directive including applications, the used materials and equipments, laboratory quality assurance and quality control, laboratory accreditation.

Experimental profiles were established in the selected areas of the pilot provinces Antalya, Çanakkale and İstanbul as Antalya-Konyaaltı Beach (Konyaaltı Beach Park 2nd Beach), Çanakkale-Bozcaada Ayazma Beach, İstanbul-Riva Elmasburnu Beach. The applications were disseminated to all other 34 provinces by transferring the information about the activities done by the pilot provinces through training and workshop.

Methods for the classification of bathing water, for the establishment of bathing water profiles, for bathing water data management, for the bathing

water quality monitoring and public information in accordance with the 2006/7/EC EU Directive were developed. Information about these subjects was given place in the prepared Guidance Documents.

Six Guidance documents were prepared by the French and Italian experts, published and distributed. "Guidance on Bathing Water Quality Classification (2006/7/EC)", "Guidance on Bathing Water Profiles (2006/7/EC)", "Guidance on Bathing Water Quality Data Management (2006/7/EC)", "Guidance on Bathing Water Quality Monitoring (2006/7/EC)", "Guidance on Cyanobacteria Proliferation in Bathing Waters (2006/7/EC)" for the Public Health Institution of Turkey, Environmental Health Department and the Public Health Directorates of the 34 provinces. "Guidance on Bathing Water Analysis (2006/7/EC)" for the Public Health Institution of Turkey - Public Health Laboratories Department and Public Health Laboratories of the 34 Provinces (12-17).

Data quality assessment and classification practice were done by pilot provinces Antalya, Çanakkale and İstanbul on the basis of 4 years data. The applications were disseminated to all other 34 provinces by transferring the information about the activities done by the pilot provinces through training and workshop.

Improvement studies on the web-based database which is currently used by the Public Health Institution of Turkey - Environmental Health Department, having web-address of <http://cbs.cevresaglik.gov.tr> and having 5 component as drinking water, bathing water, natural mineral water - spring water (bottled water), swimming pools and thermal waters were conducted in the direction of the requirements of 2006/7/EC EU Directive.

Web site having the web-address of www.yuzme.saglik.gov.tr was put into service for public information

During the project 10 project steering committee meetings, eight inter-ministerial meetings, three pilot provincial meetings, three working group meetings, results oriented five trainings, one seminar, five workshops, five study visits and various local visits were achieved.

The project had a web site under the address of <http://www.aquacoope.org/turkeybw/>.

DISCUSSION

The first European bathing water legislation, "Council Directive concerning the quality of bathing water 76/160/ EEC has been transposed to the Turkish Legislation by the Ministry of Environment and Forestry with the By-Law on Bathing Water Quality, which was published in the Official Gazette No. 260489, dated February 2006 (5, 18).

The By-Law on Bathing Water Quality defines the competent authorities that are responsible for monitoring and inspection of bathing waters, preparing permits for discharges to these waters, and preventing pollution in those areas. Monitoring activities in bathing and recreational waters are carried out by the Ministry of Health. However, the Ministry of Environment and Urbanization has the right to perform monitoring activities in those waters if required. In lake and sea coasts that are conventionally used by a large number of bathers in the bathing season, the Public Health Directorates that are the provincial level of Public Health Institution of Turkey (central level) are carrying out microbiological monitoring studies at sampling points that are determined by the provincial commission established in accordance with the By-Law on Bathing Water Quality. In provinces the Public Health Directorates of Public Health Institution of Turkey also determine the bathing water sampling schedules for bathing season

before the season. The Ministry of Health, Public Health Institution of Turkey sends the results of the monitoring activities to the Ministry of Environment and Urbanization/the Ministry of Forestry and Water Affairs. When the bathing water monitoring results reveal that there are deviations from the parameter values, the Ministry of Environment and Urbanization is doing the necessary inspections to prevent pollution in source. On the other hand, in accordance with the By-Law on Bathing Water Quality, inspection and monitoring rights of authorities defined in the By Law are reserved. In this scope, in order to protect environment and public health, these authorities may take preventive measures for potential pollution in bathing waters.

The By-Law on Bathing Water Quality involve not only the microbiological parameters and physicochemical parameters but also the guidance values, mandatory values, minimum sampling frequencies, methods of analysis and inspection of parameters as well for the quality requirements of bathing water. The microbiological parameters are total coliforms, faecal coliform, faecal streptococci, Salmonella spp., enteroviruses. The classification of bathing water during and at the end of the bathing season are done through the assessment of the analysis results of total coliform, faecal coliform and faecal streptococci with guidance and mandatory values. During bathing season the classification is expressed as good, average and bad quality while at the end of the season the classification is expressed as A (excellent quality), B (good quality), C (bad quality) and D (forbidden).

The "Directive 2006/7/EC concerning the management of bathing water quality and repealing Directive 76/160/EEC" hasn't been transposed to the

Turkish legislation yet. In the National Action Plan for EU Accession Phase II (June 2015-June 2019) the transposition period of this directive was given as second half of 2017. The transposition activities of this directive are being carried out in the coordination of the Ministry of Health with the contribution of the Ministry of Environment and Urbanization, the Ministry of Forestry and Water Affairs, the Ministry of Foreign Affairs and the other relevant institutions and organizations.

CONCLUSION

The technical and institutional capacity for the full implementation of the 2006/7/EC Directive both by the Ministry of Health - Public Health Institution of Turkey at the central level and the Public Health Directorates of the 34 provinces at the provincial level were improved successfully with the project.

This project was previously presented as poster in the National Water and Health Congress (19).

ACKNOWLEDGEMENTS

This project was co-financed by European Union and the Republic of Turkey. It is a twinning partnership between France, Italy (Member States) and Turkey (Beneficiary).

We would like to express our deepest appreciation to all those who provided us technical and administrative assistance, expertise, knowledge, cooperation and coordination to complete this project successfully. We thank our French partners from International Office of Water (IOW) (Office International de l'Eau) (OI Eau), Ministry of Social Affairs and Health, Ministry of Ecology and Sustainable Development, Bureau of the French Water Agencies in Brussels, Laboratories of Paris and Nice, French Agency for Food Safety ANSES, BRGM (Bureau de Recherche Geologique et Miniere) and Italian partners from Fondazione Minoprio, Ministry of Health, the Emilia-Romagna Region ERR. Italian National Health Institute (ISS), Regional Environment Protection Agency Veneto (ARPAV/ISPRA), Regional Environment Protection Agency Emilia-Romagna (ARPAER/TSPRA), the Delegation of the European Union to Turkey, the Prime Ministry Undersecretariat of Treasury - Central Finance and Contracts Unit, the Ministry for EU Affairs, the Ministry of Health - Public Health Institution of Turkey - Environmental Health Department - Water Safety Unit.

We sincerely thank French and Italian colleagues Josiane MONGELLAZ (Former Project Leader), Pierre Chantrel (Project Leader), Andre Boschet (Residence Twinning Adviser), Brigitte Moissonnier, Laurent Pena, Bernard Hugues, Eric Mino, Olivier Coulon, Virginie Le Bris, Fulvio Ferrara, Benoit Gassiloud, Christophe Rosin, Florence Pintus, Chantal Trublet, Alexis Armengaud, Gilles Bidet, Thierry Panaget, Agnes Alexandre-Bird, Michel Marzin, Jean Duchemin, Melanie Archambault, Enzo Funari, Liana Gramaccioni, Emilia Aimò, Marinella Natali, Gianluca Girardi, Paolo Lauriola, Emanuela Testai, Maura Manganelli and Herve Tron.

We deeply thank Turkish colleagues from Public Health Institution of Turkey - Environmental Health Department, Dr. Hüseyin İter (Department head), Zinnet Oğuz (Unit coordinator, key expert), Alper Köşger (Result 4 expert), Şenol Yılmaz, İbrahim Çubuk, Yeliz Kurt, Mustafa Özdemir and all other Water Safety Unit staff. Special thanks to the pilot province colleagues Hüseyin Özyurt, Sait Şen, Metin Balcı, Erdem Atan, Adem Ceran, İdris Çelik, Emine K. Altunkaynak (İstanbul Public Health Directorate), Mustafa Karabulut (İstanbul Beykoz Public Health Center), Metin Kandemir, Hüseyin Yücel (Antalya Public Health Directorate), Funda Köseoğlu (Çanakkale Public Health Directorate), Gülben Koca (Bozcaada Public Health Center), Yasin Atakan (Biga Public Health Center), Azmi Nafi Uygun (Gökçeada Public Health Center).

REFERENCES

1. Anonymous. European Commission, "Institution Building in the Framework of European Union Policies Common Twinning Manual- Revision (2012), Update 2013-2014". http://ec.europa.eu/europeaid/institution-building-framework-european-union-policies-common-twinning-manual-revision-2012-update_en, 23.10.2014.
2. Anonymous. http://ec.europa.eu/enlargement/tenders/twinning/index_en.htm, 12.01.2016
3. Anonymous. European Commission, DG Neighborhood Policy and Enlargement Negotiations-NEAR Institution Building TAIEX, Twinning, "Guidelines for Twinning Review Missions" Guidelines TRM, http://ec.europa.eu/enlargement/pdf/financial_assistance/institution_building/2015/20150226-guidelines-trm-near.pdf, 2015..
4. Bartram J, Rees G. Monitoring Bathing Waters - A Practical Guide to the Design and Implementation of Assessments and Monitoring Programmes, Published on behalf of WHO, 1st ed. London: E & FN Spon, 2000.
5. Anonymous. Council Directive 76/160/EEC of 8 December 1975 concerning the quality of bathing water. OJ L031, 05.02.1976, p.1.
6. Anonymous. <http://www.eea.europa.eu/themes/water/status-and-monitoring/state-of-bathing-water/bathing-water-directives>, 03.06.2016.
7. Anonymous. Directive 2006/7/EC of the European Parliament and of the Council of 15 February 2006 concerning the management of bathing water quality and repealing Directive 76/160/EEC. OJ L64, 4.3.2006, p.37-51.
8. Anonymous. EUROPEAN Environment and Health Information System "Bathing Water Quality" Fact Sheet 1.4 December 2009 Code RPG1_WatSan_S1 , 2016 WHO. http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0010/96967/1.4.-Bathing-water-quality-EDITED_layouted.pdf?ua=1, 2015.
9. Anonymous. <http://ec.europa.eu/environment/water/water-bathing/summary.html>, 08.06.2016.
10. Anonymous. "Bathing Water Profiles: Best Practice and Guidance December 2009", http://ec.europa.eu/environment/archives/water/report2011/profiles_dec_2009.pdf, 08.06.2016..
11. Anonymous. "Alignment in bathing water monitoring" Project Fiche - IPA decentralised National programmes TR2010/0327.01 http://ec.europa.eu/enlargement/pdf/turkey/ipa/2010/153_tr20100327.01bathingwatermonitoring.pdf , 22.01.2016.

12. Anonymous. "Guidance on Bathing Water Quality Monitoring (2006/7/EC)", 2015.
13. Anonymous. "Guidance on Bathing Water Quality Classification (2006/7/EC)", 2015.
14. Anonymous. "Guidance on Bathing Water Data Management (2006/7/EC)", 2015.
15. Anonymous. "Guidance on Cyanobacteria Proliferation in Bathing Waters (2006/7/EC)", 2015.
16. Anonymous. "Guidance on Bathing Water Profiles (2006/7/EC)", 2015
17. Anonymous. "Guidance on Bathing Water Analysis (2006/7/EC)", 2014
18. Anonymous. The Ministry of Environment and Forestry, the By-Law on Bathing Water Quality, Official Gazette dated 09. 01. 2006.and No. 26048
19. Dikmen D, Oğuz Z, İlder H, İrmak H. Alignment in bathing water monitoring / Yüzme suyunun izlenmesinde uyum TR/10/IB/EN/02, TR 2010 / 0327.01 EU Twinning Project, Poster Presentation in the National Water and Health Congress with International participation. October, 26-30, 2015, Antalya-Turkey

Farklı biyolojik organizmalarda proteomik uygulamalar

Proteomic applications of different biological organisms

Sinem ÖZENOĞLU, Hatice YILDIZHAN, Duygu ÖZEL-DEMİRALP, Demet CANSARAN-DUMAN

ÖZET

Marc Wilkins tarafından ilk defa 1994 yılında açıklanan proteomiks terimi bir organizma, doku veya hücrede herhangi bir zamanda bulunan proteinlerin tamamının, geniş çaplı protein ayırma ve tanımlama yöntemleri kullanılarak analiz edilmesi esasına dayanmaktadır. Proteom; belli bir zaman ve mekânda bir organizmanın sahip olduğu ve ifade ettiği bütün farklı proteinlerin toplamıdır. Proteomik; belli bir zamanda belli bir yerde bulunan tüm proteinlerin yapılarını, yerleşimlerini, miktarlarını, translasyon sonrası modifikasyonlarını, doku ve hücrelerdeki işlevlerini, diğer proteinlerle ve makro moleküllerle olan etkileşimlerini ifade eder. Farklı doku ve organların hücrelerinde bulunan DNA'lar birbirine benzese de proteinler birbirine benzememektedir. Bu nedenle özellikle çeşitli hastalıkların tanısında sadece genetik bilimi yeterli olmamakta, aynı zamanda proteomiks bilimine ihtiyaç da gün geçtikçe artmaktadır. Bu derleme kapsamında öncelikle farklı protein ekstraksiyon yöntemleri, iki boyutlu jel elektroforezi (2-DE) ve kütle spektrometresi teknolojilerini içeren proteomik uygulamalar ele alındı. Daha sonra; farklı organizma veya doku kullanımı ile tıbbın farklı alanlarında proteomik yöntemler uygulanarak gerçekleştirilen çalışmalardan bahsedildi. Ayrıca, son yıllarda proteom analizi ile farklı biyolojik

ABSTRACT

Proteomics described in 1994 for the first time by Marc Wilkins is based on the analysis all proteins present at any time in an organism, tissue or cell by using a large-scale protein separation and identification methods. The proteome is all the different proteins that an organism possesses and expresses at a certain time and place. Proteomic expresses the structures of all proteins at a certain time and place, placements, quantities, the post-translational modifications, functions in tissues and cells, and the interactions of other proteins and macro molecules. DNAs in cells of different tissues and organs are similar, but proteins are dissimilar. Therefore, science of genetics is not sufficient for the diagnosis of various diseases. For this reason, there is increasing interest in the science of proteomics day by day. In this review, firstly, we evaluated different protein extraction methods, two-dimensional gel electrophoresis (2-DE), and proteomic applications which include mass spectrometry (MS) techniques. Secondly, it is mentioned that the studies carried out by proteomics in different field of medicine through using of different organism or tissue. In addition, in recent years, the studies have been evaluated to determine the response of different

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



İletişim / Corresponding Author : Demet CANSARAN-DUMAN

Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Merkez Laboratuvarı, Tandoğan, Ankara, Türkiye 06100 Ankara -
Türkiye Tel : +90 533 344 47 44 E-posta / E-mail : dcansaran@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 06.07.2015
Kabul Tarihi / Accepted : 22.04.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.35761

Ozenoğlu S, Yıldızhan H, Özel-Demiralp D, Cansaran-Duman D. Farklı Biyolojik Organizmalarda Proteomik Uygulamalar Türk Hij Den Biol Derg, 2016; 73(4): 405-418

organizmaların biyotik veya abiyotik strese maruz kalınca verdiği yanıtın ve savunma mekanizmalarında kullanılan proteinlerin belirlenmesine yönelik çalışmalar üzerine değerlendirmeler yapıldı.

Anahtar Kelimeler: proteom, proteomiks, iki boyutlu jel elektroforezi (2DE), izoelektrik odaklama (IEF), MALDI-TOF

biological organisms and protein used in defense mechanisms when expose to biotic or abiotic stresses by proteome analyses.

Key Words: proteom, proteomics, two-dimensional gel electrophoresis (2-DE), isoelectric focusing (IEF), MALDI-TOF

GİRİŞ

Son yıllarda araştırmacılar genomik çalışmalar üzerine yoğunlaşarak özellikle hastalık ve diğer süreçlerle ilgili gen tanımlama yolunda hızla ilerlemişlerdir. Fakat devam eden bilimsel çalışmalar bir organizmada tanımlanan genlerin organizmanın ne kadar oranda kullandığı konusunda yeterli bilgi sağlayamamıştır. Bu nedenle genomik çalışmalarının devamı olan proteomik biyolojik iş ve işleyişin açıklanmasında oldukça önem kazanmıştır. Buna ilaveten bir diğer önemli noktada bir gen ürününün sentezi sonrası değişime uğrayabilmesi ve kesinleştirilemeyen miktarının tespiti için proteomik uygulamalarına gereksinim vardır.

Proteom, terimi ilk kez 1994 yılında Marc Wilkins tarafından önerilmiş ve genom tarafından kodlanan proteinleri tanımladığı şeklinde belirtmiştir (1,2). **Proteom**, bir hücre, organ veya organizmanın farklı gelişim evreleri, çevresel koşullar, çeşitli hastalıklar, yaşlılık gibi süreçlerde bir organizmanın sahip olduğu ve ifade ettiği sadece genler tarafından kodlanan polipeptit yapıları değil, aynı zamanda sentez sonrası modifikasyonları da içeren proteinlerin toplamı olarak ifade edilmektedir (3). **Proteomik** ise proteomun tanımlanmasıdır. Proteomik çalışma ilkesi

önce proteinin izolasyonu ve saflaştırılması, ayrılması (Elektroforez ve Kromatografiye dayalı teknikler), kütle spektrometresi (MS), proteinlerin tanımlanması, olası değişimlerin belirlenmesi ve veri analizine dayanmaktadır. Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) proteinlerin moleküler büyüklüğünü analiz etmek için kullanılmaktadır. Poliakrilamid jellerle yapılan elektroforez, örnekteki bileşenlerin daha iyi ayrışmalarını sağlar. Western Blot ise protein ifade değişimlerini doğrulamak için farklı örneklerdeki protein miktarının belirlenmesinde ve yardımcı immüno-presipitasyon deney sonuçlarının analizinde kullanılmaktadır. MALDI (matrix-assisted laser desorption ionization) kütle spektrometresinde kullanılan iyonizasyon tekniğidir. Biyomoleküllerin ve büyük organik moleküllerin analizinde kullanılmaktadır.

Belli koşullar altında bütün bir organizmanın, özel bir dokunun veya herhangi bir hücresel kısmın protein boyutunda değişiklikleri belirlenebilmesine dayanan proteom çalışmalarının sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Özellikle son yıllarda stres moleküler biyoloji alanında bitkilerde strese dayalı proteom boyutundaki farklılaşmalar başta olmak üzere farklı

biyolojik organizmalarda değişik amaçlı birçok çalışma literatürde yer almaktadır.

Farklı Biyolojik Organizmalarda Proteomik Uygulamalar

Bakteri Proteom Uygulamaları

Tang ve arkadaşları (2008), süksinonitril uygulanmasından sonra *Klebsiella oxytoca*'nın proteomik analizini araştırmışlardır. Bu çalışma, *K. oxytoca* türünün süksinonitril sonucu etkisinin fizyolojik cevabının oluşturacağı değişimin belirlenebilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. MALDI-TOF (Matrix-assisted laser desorption ionization Time-of-flight) ve iki boyutlu PAGE teknikleri kullanılarak, amonyum ile muamele edilmiş hücrelerle karşılaştırıldığında, süksinonitril ile muamele edilmiş *K. oxytoca* türünde yedi tane farklı ifade vermiş protein belirlenmiştir. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon-S-transferaz (GST) ve bir metal bağlama protein olan PsaA gibi proteinlerin artan ifadesi, oksidatif stresin oluşumuna eşlik eden süksinonitrilin biyodegradasyonunda önerilen süksinonitrilin detoksifikasyon sürecine de dahil olabileceği araştırmacılar tarafından belirtilmiştir. Ayrıca *in vivo* koşullarda süksinonitril toksisitesinde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (4).

Alg Proteom Uygulamaları

Srivastava ve arkadaşları (2008), *Anabaena doliolum*'da tuzluluğa bağlı fizyolojik ve proteomik değişiklikleri gözlemlemişlerdir. Bu çalışma, *A. doliolum*'da tuzluluğa bağlı fizyolojik değişkenlerin inhibisyonu, proteom değişiklikleri ve glikolat metabolizmasının indüksiyonu hakkında bilgiler sunmaktadır. O₂ evrimi, karbon fiksasyonu, klorofil ve NADPH/NADH seviyesinde azalma ve hücre içi Na⁺ ile solunumdaki artış bir ve 24 saat süreyle 150mM NaCl uygulamasının ardından gözlenmiştir. MALDI-TOF kütle spektrometresi ve iki boyutlu jel elektroforezi, demir süperoksit dismutaz, süperoksit dismutaz, fikosiyanın alfa zinciri, uzama faktörü-Tu

(EF-Tu), ribuloz 1,5-bifosfat karboksilaz/oksijenaz ve fosforibulokinaz ile önemli değişiklikler gösteren altı protein seti belirlemiştir. Artan Rubisco aktivitesi ve azalan karbon fiksasyonu, glikolat metabolizma çalışmasını gerektirdiğini belirlemişlerdir. Bunun sonucunda artan glikolat oksidaz aktivitesi, glisin, serin ve amonyum içeriklerinin artışı, serbest ve fosfogliseric asidin birikimi ile teyit edilmiştir (5).

Tran ve arkadaşları (2009) yaptıkları çalışmada, *Haematococcus lacustris*'de astaksantin birikimi sırasında ifadesi artmış proteinlerin belirlenmesini amaçlamışlardır. Bunun için *H. lacustris* hücreleri altı gün boyunca normal ışık altında fotobiyoreaktörde yetiştirilmiş ve ardından hücreler azotun tükenmiş olduğu bir koşulda sabit faza ulaştıktan sonra ışık kaynağı gibi florasan lambalarla sürekli yüksek ışınım maruz bırakılmıştır. Üç gün boyunca astaksantin birikimi meydana gelmiştir. Bu koşullar altında, üç günlük indüksiyondan sonra her bir hücrede ortalama astaksantin içeriği 91 mg/L'den 406 mg/L'ye yükselmiştir. İki boyutlu elektroforetik karşılaştırma ile proteomik veriler, azot kaynağının tükenmesi ve bir saat daha yüksek ışık kombinasyonunun *H. lacustris*'te protein ifadesini belirgin bir şekilde değiştirdiğini göstermiştir. 49 protein noktası bir saatlik indüksiyondan sonra seçilmiştir. Bu proteinlerin 13 tanesi ifadesi azalan proteinlerden, 36 tanesi ise ifadesi artan proteinlerden oluşmaktadır. Yüksek seviyede ifadesi artan 15 protein MALDI-TOF kütle spektrometresi ile analiz edilmiştir. Sonuçlar astaksantin biyosentezi yolunun daha fazla analizi için takip edilebilir ilginç proteinleri işaret etmiştir (6).

Tran ve arkadaşları (2009), *H. lacustris* (*Chlorophyceae*) yeşil alg türünün azot yetersizliği ve yüksek ışınım stresi altında proteinlerin ifade analizleri araştırılmıştır. Tek hücreli yeşil alg *H. lacustris* değiştirilmiş bazal ortamında (MBBM) ışık özümsele olarak ekimi gerçekleştirilmiştir. *H. lacustris* hücreleri altı gün boyunca normal ışık radyasyonuna maruz bırakılmış daha sonra floresan

ışık kaynağı olarak kullanılarak üç gün daha devam eden ışık radyasyonuna maruz bırakılarak astaksantin birikmesi beklenmiştir. Protein izolasyonundan sonra SDS-PAGE ardından protein noktaları kendi içinde kontrol grubu ya da normal örnek ile karşılaştırılmış 2 kat üzerinde sapmanın istatistiksel olarak önemli fark olması nedeniyle belirlenmiştir. Elde edilen peptitlerin MALDI-TOF-MS analizi ile karakterizasyonu sağlanmıştır. Bu aşamada veri tabanındaki eşleşen proteinlerin deneysel triptik sindirimi ve teorik sindirimi MASCOT ara yüzü kullanılarak uygulanmıştır (7).

Fungus Proteom Uygulamaları

Rustichelli ve arkadaşları (2008), *Physica adscendens* (Fr.) liken türünün kadmiyum (Cd) stresine proteomik açıdan oluşacak yanıtı detaylı olarak incelemişlerdir. Liken tallusu altı, 18, 24 ve 48 saat boyunca 36µM Cd konsantrasyonuna maruz bırakılmıştır. İki boyutlu elektroforez ve kütle spektrometresi analizi sonucunda farklı zaman aralığında, Cd stresi uygulama sonucunda %80-85 oranında farklı spot kimlik göstermiştir. Genel olarak ısı-şok proteinleri ve glutatyon S-transferaz tüm Cd stresi uygulamalarında ifadelerini artırmışlardır. ABC taşıma proteinlerinin ise altı ve 18 saat Cd stres koşulları altında ifadesinin azaldığı tespit edilmiştir (8).

Bitki Proteom Uygulamaları

Zörb ve arkadaşları (2004), kök ve sürgündeki protein seviyesinde tuz stresine karşı mısır bitkisinin (*Zea mays L.*) biyokimyasal farklılaşmasını ilk defa göstermişlerdir. Mısır tuza duyarlı bir bitki olarak kabul edilmektedir. Zörb ve arkadaşları iyon etkilerini en aza indirmek için düşük NaCl konsantrasyonu ve Na⁺ derişimi kullanmışlardır. *Zea mays*'dan elde edilen total protein, iki boyutlu PAGE kullanılarak analiz edilmiştir. Mısır bitkisine yüksek NaCl

uygulanması kök ve sürgünde farklı düzenlenmiş proteinlerin sayısında beklenmedik bir artışa yol açmıştır. Ortalama tuz stresi (25mM NaCl), bitkilerde Na⁺ ve Cl⁻ konsantrasyonları ve morfolojilerine olan etkileri dışında, kök proteinlerinin %45'inde ve sürgün proteinlerinin %31'inde diferansiyel bir düzenlemeye yol açmıştır. Yüksek tuz stresi ise (100mM NaCl) proteinlerin %80'inden daha fazlasında değişikliklere yol açmıştır. Tuz stresinden dolayı ifade artışı gösteren protein, MALDI-TOF kullanılarak peptit kütle parmak izi ile belirlenmiştir. Düşük tuz stresi altında farklı olarak düzenlenmiş üç grup protein belirlenmiştir: birincisi, kinazlar tarafından protein modifikasyonları ve protein biyosentezini de içeren proteinler, ikincisi karbon metabolizma enzimleri ve üçüncüsü ise azot metabolizmasındaki enzimlerdir. Bu 14 proteinin sekiz tanesi transkripsiyon, translasyon ya da metabolizma seviyesindeki yüksek tuz stresi altında literatüre farklı ifade vermiş olarak rapor edilmiştir (9).

Ahsan ve arkadaşları (2007a), çalışmalarında çimlenmiş pirinç tohumlarında bakır (Cu) stresine bağlı fizyolojik ve proteomik değişiklikleri araştırmışlardır. Araştırma sonucunda çimlenme oranı, sürgün uzaması, bitki biyokütlesi ve su içeriğinde azalma gözlenirken, tohumlarda Tiyobarbitürat reaktif maddeler (TBARS) içeriği ve bakır birikimi, çimlenme aşamasını takiben 0.2mM'dan 1.5 mM'a artan farklı Cu konsantrasyonlarında önemli bir artış göstermiştir. SDS-PAGE yöntemi ile Cu stresi altında polipeptit zincirindeki değişiklikler gösterilmiştir. İki boyutlu jel elektroforezi ile analiz edilen protein profilleri sonucunda, Cu ile muamele edilmiş örneklerde farklı bir şekilde ifade düzeyi gösterdiği ortaya çıkmıştır. 25 protein noktasından, 18'inde ifade artışı, 7'sinde ise ifade azalması görülmüştür. Diferansiyel olarak gösterilen bu proteinler MALDI-TOF kütle spektrometresi ile kimliklendirilmesi yapılmıştır. Bazı antioksidanların miktarındaki artış ve DNAK-

tipi moleküler şaperonlar, U1P1 proteaz ve reseptör benzeri kinazlar gibi bazı regülatör proteinler ile glikolaz I, peroksiredoksin ve aldoz redüktaz gibi stres ile ilişkili proteinler, yüksek konsantrasyonlarda Cu stresinin oksidatif stresi üretebildiğini açıkça gösterilmiştir. Ayrıca alfa-amilaz ya da enolaz gibi anahtar metabolik enzimlerin ifadesinin azalışı, Cu stresinden sonra tohum çimlenmesinin inhibisyonunu etkilediği ve aynı zamanda yedek mobilizasyon süreçlerinin başarısızlıkla sonuçlandığını ortaya çıkarmıştır. Bu sonuçlar ışığında yoğun Cu stresine maruz bırakılan çimlenmiş pirinç tohumlarında fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikler arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir (10).

Ahsan ve arkadaşları (2007b), Cd toksisitesine maruz bırakılan pirinç fidelerinin çimlenmesinin fizyolojik ve protein profillerindeki değişimini araştırmışlardır. Bu çalışmada, Cd stresini takiben çimlenme aşaması sırasında protein profilindeki değişimleri araştırmak için proteomik yaklaşımların morfolojik ve fizyolojik parametreler ile birlikte araştırılması amaçlanmıştır. Tohumlar 0.2mM ve 1.0mM arasında farklı konsantrasyonlarda Cd stresine maruz bırakılmışlardır. Ortamda Cd konsantrasyonunun artışı, tohumlarda TBARS içeriği ve artan Cd katyonu birikimi ile sonuçlanırken, çimlenme oranı, sürgün uzaması, biyokütle ve su içeriği önemli oranda azalmıştır. Farklılık gösteren 21 protein MALDI-TOF kütle spektrometresi ile belirlenmiştir. Belirlenmiş proteinler savunma ve detoksifikasyon, antioksidant, protein biyosentezi ve çimlenme süreci gibi birçok süreçte yer almaktadırlar. Cd stresine maruz kalan örneklerde tespit edilen proteinlerin belirlenmesi, çimlenme aşamasında tohumların ağır metal stresine karşı oluşturdukları yanıtların moleküler temelini anlamaya yol açabilen yeni bir görüş açısı sağlamıştır (11).

Leea ve arkadaşları (2009) kütle spektrometresi ve iki boyutlu jel elektroforezi ile soğuk stresine yanıt olarak pirinç köklerinin protein ifadesini

araştırmışlardır. Pirinç fideleri 10°C'ye tabii tutulmuştur ve örnekler 24 ve 72 saatlik uygulamadan sonra toplanmıştır. Kök dokularında düşük miktardaki proteinleri tespit etmek için, örnekler %15'lik polietilen glikol (PEG) ile ayrılmışlardır ve gümüş ya da Coomassie brilliant blue (CBB) boyama ile görüntülenmiştir. İfadesi artan 27 protein MALDI-TOF kütle spektrometresi ve ESI-MS/MS analizleri ile belirlenmiştir. Daha önce tanımlanmış soğuk stresinde ifade vermiş proteinler ile birlikte, asetil transferaz, fosfoglukonat dehidrojenaz, spesifik NADP izositrat dehidrojenaz, fruktokinaz, PrMC3 ve glikolaz I'i içeren bir grup yeni protein belirlenmiştir. Bu proteinler belirli hücresel süreçlere katılmaktadır. Bazı seçilmiş proteinlerin mRNA seviyesindeki gen ifadesinin, transkripsiyon seviyelerinin her zaman transkripsiyon seviyelerine eşlik etmediğini ortaya çıkarmıştır. Ayrıca bazı yeni proteinlerin belirlenmesi ve kökte meydana gelen proteom ifadesinin araştırılması, bitkilerde soğuk stresine olan yanıtın moleküler temelini daha iyi anlaşılmasına yardımcı olabilmektedir (12).

Natarajan ve arkadaşları (2009) soya fasulyesi tohumlarındaki proteinlerin doğal çeşitliliğini anlamak, genetik olarak değiştirilmiş soya fasulyesindeki transgenik modifikasyonlardan dolayı istenmeyen değişiklikleri değerlendirmek için gereklidir. Soya fasulyesi proteinlerinin farklı sınıflarını ayırmak, belirlemek ve ölçmek için iki boyutlu PAGE, MALDI-TOF ve Tandem kütle spektrometresi ile birlikte sıvı kromatografisi kullanılmıştır. 4 farklı alt gruba ait, dört yabancı ve 12 kültür genotiplerini de içeren 16 soya fasulyesi genotipi ise protein profillerini belirlemek için model olarak kullanılmıştır. Önemli allerjen çeşitleri ve anti-besin protein profilleri iki farklı grup arasında gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar genetiği değiştirilmiş organizmalar ve genetiği değiştirilmemiş organizmalar arasında karşılaştırma yapmak için kullanışlı olabilmektedir (13).

Toorchi ve arkadaşları (2009) soya fasulyesi köklerinde osmotik stresle ilişkili proteinlerin

belirlenmesi için proteomik teknikleri kullanmışlardır. Osmotik strese cevap veren bitkilerin mekanizmalarını araştırmak için PEG ile muamele edilen soya fasulye bitkilerinin protein profilleri proteomik tekniklerle görüntülenmiştir. %10'luk sulu PEG muamelesi kök uzunluklarını ve soya fasulyesi tohumlarının hipokotil uzunluklarını azaltmıştır. Soya fasulyesi kökleri proteinleri iki boyutlu PAGE ile ayrılmıştır ve 415 protein CBB boyama ile belirlenmiştir. PEG muamelesi ile değişen 37 protein Edman sekanslama ve peptit kütle parmak izi kullanılarak analiz edilmiştir. 17 protein kümeleme analizi sonuçları ve bolluk değişiminin kütesel analizi kullanılarak daha fazla deneysel çalışmalar için seçilmiştir. Diğer abiyotik streslerin etkileriyle yapılan karşılaştırma sırasıyla kafeoil-COA-O-metiltransferaz ve 20S protozom alfa altünite A'nın artan abiyotik strese karşı azaldığını göstermektedir (14).

Zhang ve arkadaşları (2009) yaptıkları çalışmada, *Agrobacterium* ile somatik embriyoların ve üzümün embriyojenik kallusunun (EC) ortak yetiştirilmesi, genellikle doku esmerleşmesi ve ardından hücre ölümünü gösteren negrogeneze yol açmaktadır. İlginç bir şekilde üzümün embriyojenik olmayan kalluslarının (NEC) ortak yetiştirilmesi ise herhangi görünür bir belirti göstermemektedir. Bu çalışma *Vitis vinifera* L.'nin EC ve NEC kalikus tiplerinde proteom boyutundaki altında yatan mekanizmayı amaçlamışlardır. İki boyutlu jel analizi 1180 nokta ortaya çıkarmıştır ve bunların 154 tanesi EC'ye karşı NEC'te farklı şekilde tepki veren proteinler olarak belirlenmiştir. 108 tane proteinin kimliği belirlenmiştir. Özel ya da ağırlıklı olarak EC'de belirlenenler demir eksikliğine duyarlı proteinler, asidik askorbat peroksidaz ve izoflavon redüktaz benzeri proteinlerdir. Özel ya da baskın olarak NEC'te belirlenen proteinler ise temel askorbat peroksidaz, katalaz, kalsinorin-B benzeri protein, 1,3- B glukanaaz ve siklin bağımlı kinaz A1'lerdir. PR-10 proteini EC'de NEC'e göre son derece düşük seviyede bulunmaktadır. Bu sonuçlar, farklı stres yanıtı yollarının NEC'ten EC'ye

aktif olduğunu göstermektedir (15).

Ahsan ve arkadaşları (2010), pirinç yapraklarında kütle spektrometresi ve iki boyutlu jel elektroforezi ile arsenik (As) stresi altında pirinç yapraklarındaki protein ifade profillerini araştırmışlardır. İki haftalık pirinç tohumları iki farklı arsenat konsantrasyonuna (50 ve 100 µM) maruz bırakılmıştır ve yaprak örneklerine stres uygulamasından sonra dördüncü günde toplanmıştır. Pirinç yapraklarında strese bağlı olarak oluşan farklı protein ifadelerinin gösterilmesi için, önce kontrol ve stres uygulanmış örneklerden protein ekstrakte edilmiştir, sonrasında iki boyutlu jel elektroforezi ile protein bantları ayrılmıştır ve CBB ile boyanarak görünür hale getirilmiştir. Kontrol örneği ile arsenik stresi uygulanmış örnekler karşılaştırıldığında toplam 14 farklı protein noktasında en az 1.5 kat ifade değişiminin tekrarlanabilirliği gösterilmiştir ve her iki uygulama benzer bir ifade değişimini göstermektedir. Arsenik (As) stresine maruz kalmış örneklerde 14 protein noktasının sekiz tanesinde ifade artışı, altı tanesinde ise azalmış ifadenme olduğu MALDI-TOF kütle spektrometresi cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Metabolizma ve enerji üretimi ile ilişkili çeşitli proteinlerin artan ifadesi, As stresine maruz kalan bitki yapraklarının metabolik süreçlerin aktivasyonu için gerekli olan yüksek enerjiden olduğu düşünülmektedir. Diğer bir deyişle, 2-DE analizleri sonucunda, immunoblotlama yöntemi ile rubisko enziminin geniş alt ünitesinin As stresi altında önemli derecede azaldığını açıkça ortaya çıkarmıştır. Ayrıca, Rubisko enziminin ifadesindeki azalma ve kloroplastdaki ribonükleoproteinler, As stresinden dolayı fotosentez oranında azalmaya neden olabileceği gözlemlenmiştir. Diğer bir deyişle, immunoblotlama ile birlikte 2-DE sonuçları Rubisco'nun büyük alt ünitesinin As stres koşulları altında önemli bir azalma gösterdiğini açıkça ortaya çıkarmıştır. Ayrıca, Rubisco'nun ifadesinin azalması 29 kDa kloroplast ribonükleoproteinleri As stres koşulları altında fotosentez oranının azalmasının ana nedeni olarak görülmektedir (16).

Lee ve arkadaşları (2010) pirinçte Cd etkisini araştırmak için, yaprak ve kök üzerine Cd'nin proteom boyutunda etkisini gözlemişlerdir. Farklı dozlarda Cd uygulanmasından sonra kök ve yaprak dokuları ayrı ayrı toplanmıştır ve yapraktan protein izolasyonu sırasında PEG kullanılmıştır. Görüntü analizinden sonra farklı düzenlenmiş proteinler seçilmiştir ve MALDI-TOF kütle spektrometresi cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Cd uygulamasından sonra 36 proteinin ifadesinde artma ya da azalma görülmüştür. Cd uygulanmış olan kök örneklerinde toplam glutasyon seviyesi azalmıştır ve köklerde ifadesi artmış proteinlerin yaklaşık yarısı oksidatif strese karşı cevap oluşturmuşlardır. Elde edilen bu sonuçlar ile köklerdeki antioksidatif etkinin, oksidatif stresin azalması için gerekli olabileceğini önermişlerdir. Ayrıca RNA jel blot analizi sonucunda proteom analizlerde belirlenmiş proteinlerin transkripsiyonel seviyede farklı düzenlendiği gösterilmiştir (17).

Monagas ve arkadaşları (2010), bitki proantosiyanidinlerin MALDI-TOF analizlerini araştırmışlardır. Proantosiyanidin polifenol bir bileşendir ve kardiyovasküler, nörodejeneratif hastalıklar ve kanserin önlenmesinde önemli rol oynadıkları belirlenmiştir. Bitki proantosiyanidinlerin biyolojiksel aktivitesi, kimyasal yapıları ve konsantrasyonlarına bağlı olarak değişim göstermektedir. Fakat yapısının çeşitliliği ve kompleksliliğinden dolayı, proantosiyanidinlerin kalitatif ve kantitatif analizlerini yapmak oldukça güç olduğu belirlenmiştir. MALDI-TOF yöntemi ile gerçekleştirilen bu çalışmada, bitki proantosiyanidin uygulaması kapsamlı bir şekilde açıklığa kavuşturulmuştur (18).

Wen ve arkadaşları (2010), yaptıkları analizlerde giberillik asidin (GA3) kök dokularının uzunluğu dahil olmak üzere, konsantrasyona bağımlı bir biçimde pirinçte (*Oryza sativa L.*) NaCl kaynaklı

büyüme inhibisyonunun azaldığını belirlemişlerdir. Wen ve arkadaşları GA3 aktivitesinin mekanizmasını aydınlatmak için karşılaştırmalı bir proteomik analizi kullanmışlardır. 48 saat tuz ve giberillik asit uygulanan beş günlük fideler proteomik analizler için kullanılmışlardır. Tuz ve GA3 tarafından farklı düzenlenmiş 11 protein iki boyutlu PAGE ile ortaya çıkarılmıştır ve MALDI-TOF kütle spektrometresi ile belirlenmiştir. Bu proteinler glutamil-tRNA redüktaz, enolaz, tuz proteinleri, varsayımsal protein, şaperon 21, ribuloz bifosfat karboksilaz, izoflavon redüktaz benzeri protein ve fosfoglukomutazdır. Bu proteinlerin bazıları fotosentez ve glikoliz gibi biyokimyasal yollara katılmaktadır, fakat diğerleri pirinçte tuz stresine yanıt olarak özellikle yeni proteinler olarak bulunmuştur. Yaptıkları çalışma, pirinçte tuz stresi üzerinde GA3'ün modüle etkisini ortaya çıkarmada yeniden önem kazanmasını sağlamaktadır (19).

Fana ve arkadaşları (2011), koyun salyası uygulanmasından sonra farklı ifade edilmiş proteinleri çalışmak için model olarak pirinç bitkisi kullanılmıştır. İki haftalık fidelerin sürgünleri enine kesilmiştir ve alt kısımlarındaki kesme yüzeyine koyun salyası sürülmüştür. İki, altı, 12 ve 24 saatlik uygulamadan sonra, proteomik analizler, koyun salyası uygulanan sürgünlerden ekstrakte edilen proteinler kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçlar proteinlerin, katalaz, peroksiredoksin, ATP sentaz, gliseraldehit 3-fosfat dehidrojenaz ve ribuloz 1,5-bifosfat karboksilaz/ oksijenaz (Rubisco)'ı da içeren koyun salyasına yanıt olarak farklı ifade edilmişlerdir. Ayrıca RT-PCR verileri genlerin birçoğunun ayrıca transkripsiyon seviyelerinde düzenlendiğini göstermektedir. Bu çalışma protein seviyesinde pirinç fidelerinin koyun salyasına olan yanıtı hakkında bilgiler sağlamıştır (20).

Hwang ve arkadaşları (2011) pirinç tohumlarında ritmik proteinleri belirlemek için proteomik analiz yöntemlerini kullanmışlardır. Pirinçte ritmik proteinleri

belirlemek için periyodiksel olarak yetiştirilen tohumlar (12 saat ışık/12 saat karanlık döngü) 6 saatlik aralıklarla üç gün boyunca saklanmıştır. Sürekli karanlığa adapte olmuş bitkiler ise iki gün boyunca saklanmıştır. Her bir jelde yaklaşık 3000 yeniden üretilebilir proteinler arasında, proteomik analizler sonucu ışık-ayarlı ritmik proteinler gibi 354 tane nokta tespit edilmiştir. Sürekli karanlık koşullar altında bu 354 tespit edilmiş ritmik protein noktaları, 74 günlük noktalar ve 10 uzun sürekli ritmik noktalar MALDI-TOF cihazı ile gerçekleştirilen analizler ile belirlenmiştir. Ritmik proteinler fonksiyonel olarak fotosentez, merkezi metabolizma, protein sentezi, azot metabolizması, stres dirençliliği ve sinyal transdüksiyonuna ayrılmıştır. Ritmik proteinlerin RT-PCR analizi ve mikrodizin veri tabanı ile proteomik verinin karşılaştırmalı analizi, RNA ve protein arasında farklı ritmik proteinlerin ifade fazının olduğunu göstermiştir ve ayrıca pirinçte saat ayarlı proteinlerin sadece transkripsiyonel olarak değil aynı zamanda post-transkripsiyonel, translasyonel ve post-translasyonel süreçlerle de modüle edilebildiği önerilmiştir (21).

Zhao ve arkadaşları ise (2011), *Phytolacca americana* hiperakümülatör bitkisinin yapraklarında Cd stresine bağlı proteomik değişimleri incelemiştir. Bu çalışmada, *P. americana*'da protein ifadesi modellerinin Cd stresine bağlı olarak etkileri, 2-DE ile araştırılmıştır. Hem kontrol hem de Cd stresi uygulanmış (400 µM, 48 saat) tohumların sonrasında yaprak proteinlerinin 2-DE profilleri kantitatif ImageMaster yazılımı kullanılarak karşılaştırılmıştır. Toplamda, 25 gen ürününe karşılık gelen, 32 tane farklı ifade edilmiş protein noktaları, MALDI-TOF/TOF kütle spektrometresi kullanılarak tespit edilmiştir. Ortaya çıkan 25 gen ürününün 14 tanesinin ifadesi Cd stresi altında artmışken 11 tanesinde azalma göstermiştir. Protein ifadesindeki değişim, immunoblot analizleri ile de birçok protein için doğrulanmıştır. Büyük değişiklikler, sülfür ve GSH-ilişkili metabolizmaların yanı sıra fotosentetik yollarda rol oynayan proteinlerde görülmüştür. İfadesi artmış proteinlerin

%33'ü kalretikulin ailesine ait bir protein de dahil olmak üzere transkripsiyon, translasyon ve moleküler şaperonlara bağlanmıştır (22).

Li ve arkadaşları (2012) proteomik bir yol kullanılarak salatalık köklerinde hipoksik duyarlı proteinlerin belirlenmesini araştırmışlardır. Hipoksik stresinde salatalık tohumlarının mekanik yanıtını aydınlatmak için, bitkiler ya normoksik koşulda ya da hipoksik koşullar altında yetiştirilmiştir. Beklendiği gibi, bitki biyokütlesi hipoksik stres koşulları altında önemli ölçüde azalmaktadır. Salatalık köklerinin proteomik profilleri 72 saat muameleden sonra çalışılmıştır ve sırasıyla normoksik ve hipoksik uygulanması yapılmış bitkilerden 316 ve 425 protein noktaları PAGE kullanılarak belirlenmiştir. Normoksik uygulanmış bitkilerle karşılaştırıldığında, hipoksik uygulanmış bitkilerde 12 proteinin protein bolluğu azalmışken 22 proteinin protein bolluğu önemli ölçüde ifadesinde artış tespit edilmiştir. İfadesinde değişim olmuş 21 protein MALDI-TOF/TOF kütle spektrometresi kullanılarak belirlenmiştir. Bu proteinler enerji ve metabolizma proteini, transkripsiyon faktör proteinleri, savunma stres proteinleri, yapısal proteinler ve regülatör proteinlere karşılık gelen sınıflara kategorize edilmişlerdir. Hipoksik stres koşulları altında, glikoliz uyarılmıştır, ikincil yollar ile azot metabolizma yolları baskılanmış enerji, birincil metabolizmaya iletilmiştir. Salatalık bitkilerinden antioksidanlar yardımıyla reaktif oksijen türleri uzaklaştırılmıştır ve reaktif oksijen türlerine karşı savunma gösteren asil-dezaturaz miktarı artmıştır. Bu çalışma, salatalık bitkilerinin hipoksik strese karşı tepki mekanizmasının anlaşılmasında öncülük etmektedir (23).

Ngara ve arkadaşları (2012), *Sorghum bicolor* fidelerinde tuz stresine duyarlı proteinlerin belirlenmesini araştırmışlardır. Bu çalışmada, tatlı sorgum çeşitlerinin tohumları ekilmiştir ve 100mM NaCl ile ya da olmadan katı bir büyüme ortamında yetiştirilmiştir. Isı şok proteinleri immün testi, tuz uygulamasının deneysel materyaller için doğal

fizyolojik parametreler içinde strese bağımlılığını göstermektedir. MS/MS proteomik teknikler ile birlikte iki boyutlu PAGE kombinasyonu genç sorgum yapraklarında görüntülenmiştir ve tuz stresine duyarlı proteinler belirlenmiştir. Coomassie boyası ile belirlenebilen 281 nokta dışında, 118 nokta istatistiksel olarak tuz stresine karşı anlamlı yanıtlar göstermiştir. Bu 118 noktanın 79'u iyi çözünürlük ve miktar fazlalığından dolayı kütle spektrometresi belirlemeler için seçilmiştir ve bunlardan 55 tanesi tam olarak belirlenmiştir. Belirlenen proteinler, hem bilinen hem de yeni strese duyarlı proteinleri de içeren altı fonksiyonel kategoriye ayrılmıştır (24).

Sarhadi ve arkadaşları (2012), tuz stresi altında pirinç anterlerinin proteomik analizini araştırmışlardır. Üreme aşamasında tuz toleransının moleküler mekanizmasını belirlemek için, tuz stresi altında birbirine zıt iki pirinç olan IR64 (tuza duyarlı) ve Cheriviruppu (tuza toleranslı)'nin anterlerinde proteomik modeller karşılaştırılmıştır. Kontrolde anter örnekleri toplanmıştır ve stres uygulanacak örnekler 100mM NaCl tuz stresi uygulanmıştır. Tuz stresi altındaki IR64 anterlerinde Na⁺/K⁺ oranı kontrol örneklerindeki anterlerden 1.7 kat daha büyük olduğu, ancak Cheriviruppu'da herhangi bir değişim olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca IR64'te polen canlılığında %83 oranında azalma olduğu gözlemlenmiş iken, Cheriviruppu'da bu oranın %23 olduğu tespit edilmiştir. 2-DE üzerinde tekrarlanabilir 454 protein noktasının tespitinden 38 tanesinde, strese tepki olarak en az bir genotipte önemli değişiklikler göstermiştir. MALDI-TOF/TOF kütle spektrometresi kullanılarak, karbonhidrat/enerji metabolizması, protein sentezi gibi tuz stresine karşı bitki adaptasyonunu artıracak birçok süreçler de dahil 18 protein noktası tespit edilmiştir. Fruktokinaz-2'nin üç izomorfuna tuz stresi altında sadece Cheriviruppu'da ifadesi artmıştır. Sonuçlar anter ve polen duvar modeli/metabolizma proteinlerinin tuz stresine karşı pirincin toleransında önemli rol oynadığı düşünülmektedir (25).

Wang ve arkadaşları (2012) soya fasulyesinin yüksek sıcaklık ve kuraklık stres koşulları altında hasat öncesi metabolizmasının ortaya çıkmasında karşılaştırmalı proteomik analizlerini araştırmışlardır. Soya fasulyesinin tohum gelişimi ve olgunlaşması sırasında yüksek sıcaklık ve kuraklık stresi, hasat öncesi tohumların bozulmasına neden olmaktadır. Fakat gelişmekte olan soya fasulyesinde, proteinleri ve ilgili yolları sistematik olarak nasıl bozduğu hala tam olarak anlaşılmamaktadır. Ortaya çıkarmak için, 2-DE ile bunlara karşılık gelen farklı HTH stres zaman noktalarında (24, 96 ve 168 saat), hasat öncesi tohum bozulmasına duyarlı soya fasulyesi çeşidi ile gelişmekte olan tohumun proteom bileşimi karşılaştırılmıştır. Farklı bir şekilde ifade edilmiş 42 protein noktası bulunmuştur ve 31 farklı protein türü başarılı bir şekilde MALDI-TOF kütle spektrometresi ile belirlenmiştir. Bu proteinler karbonhidrat metabolizması, sinyal transdüksiyonu, protein biyosentezi, fotosentez, protein katlanması, enerji yolu, hücrenin kurtarılması ve savunması, hücre döngüsü, azot metabolizması, lipit metabolizması, aminoasit metabolizması, transkripsiyon regülasyonu ve sekonder metabolit biyosentezini içeren 13 hücresel cevap ve metabolik süreçlere katılmaktadır. Bu proteinlerin fonksiyonlarına ve ilgili yollarına dayanarak, fizyolojik, kimyasal ve metabolik veriler, hasat öncesi tohumun bozulma mekanizmasını önermiştir. Böyle bir mekanizma, gelişmekte olan tohumlara HTH-stresi uygulandığında hücresel aktivitesinde meydana gelen olası yönetim stratejisini anlama olanağı sağlamaktadır (26).

Zheng ve arkadaşları (2012), düşük sıcaklık stresine bağlı olarak pamuğun lif uzaması sırasında protein ifadesindeki değişiklikleri araştırmışlardır. Düşük sıcaklık stresinde pamuğun lif uzamasının adaptasyon mekanizmasını araştırmak için, iki pamuk çeşidi olan Kemian 1 (düşük sıcaklığa toleranslı) ve Sumian 15 (düşük sıcaklığa duyarlı) ekilmiştir. Her iki pamuk çeşidi arasındaki temel farklılık, özellikle günlük minimum sıcaklıkta (MDT_{min}), sıcaklık olmuştur. Ekim günleri ertelendiğinde günlük

minimum sıcaklık 26.9°C'den (Kemian 1) 20.6°C'ye (Sumian 15) düşmüştür. Düşük sıcaklık stresi özellikle iki pamuk çeşidinde de lif uzamasını kısaltmıştır, fakat azalma derecesi Sumian 15'te Kemian 1'e göre daha fazladır. Üç gelişim aşamasının proteomik analizleri sonucunda 37 noktanın, düşük sıcaklık stresi altında değiştiğini göstermiştir ve bunlar kütle spektrometresi kullanılarak belirlenmiştir. Bu proteinler malat metabolizması, çözümlü şeker metabolizması, hücre duvarı gevşemesi, selüloz sentezi, sitoskeleton ve hücre duvarı gevşemesi, selüloz sentezi, sitoskeleton ve hücre duvarı katılmaktadır. Sonuçların hücre duvarı gevşemesi, hücre duvar bileşenlerinin biyosentezi ve sitoskeleton homeostasisin düşük sıcaklık stresi uygulanan pamuk liflerinin toleransında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (27).

Rana ve Sreenivasulu (2013), *Aconitum heterophyllum*'da etanol kaynaklı tohum çimlenmesi sırasında protein değişikliklerini gözlemlemiştir. Saf peptitlerin kütle spektrometresi ile analizleri, AB SCIEX TOF/TOF-5800 sistemi (AB SCIEX, USA) kullanılarak uygulanmıştır. Bu çalışmada, tohumlar oda sıcaklığında (25°C, %60 bağıl nem) %10-12 nem seviyesine ulaşılmadan kurutulmuştur. Tohumların yaşayabilirlikleri, 25°C'de ISTA (Uluslararası Tohum Test Birliği)'yı takiben tetrazolium ile renklendirilerek test edilmiştir. Tohumlar hava geçirmez kaplarda farklı zaman dilimlerinde etanol (%99) ile muamele edilmiş ve daha sonra tohumlar bir gece boyunca etanol kalıntılarının buharlaşma olanağını sağlayan hava geçirmez kaplarda saklanmıştır. Keratin içerikli peptit öncül iyonları ve tripsin otoliz ürünleri, iyon büyük toleransı (0.5Da) dışında bırakılmıştır. Protein belirlemesi için, uygun MS ve MS/MS verisi Protein Pilot™ yazılımı v3.0 (Applied Biosystems, USA) üzerine yüklenmiş ve NCBI atıksız protein dizisi veri tabanı (NCBI-nr) ve SwissProt veri tabanı ile karşılaştırılmıştır. Eşleşen peptit sayısı kapsamı yanı sıra, pI (Eş gerilim noktası) ve gözlemlenen en yakın büyüklük değeri kimliğini yayınlamak için göz önünde bulundurulmuştur. *Aconitum*'da tohum çimlenmesi %87 oranında etanol uygulaması ile başarılıdır. Çimlenmenin ikinci fazında etanol uygulaması

yapılmış ve yapılmamış tohum protein profillerinin karşılaştırmalı 2-DE analizi, 40 tane farklı olarak ifade edilmiş proteini ortaya çıkarmıştır. 40 proteinin 27'si indüklenmiş, beş tanesi artmış ve sekiz tanesi baskılanmıştır. Kütle spektrometresi ve sonraki tanımlamalar bu proteinlerin metabolizma, DNA regülasyonu, stres toleransı ve plazma membran/hücre duvarı biyosentezi/uzaması süreçlerinde etkin rol oynadığını belirlemiştir. Bu protein değişiklikleri çimlenme yüzdesinin artışıyla sonuçlanan fizyolojik ve fiziksel değişimlerden sorumlu olabilmektedir (28).

Müller ve arkadaşları (2014), çevre sıcaklığı artmış bitki hücrelerinin tepkilerindeki erken sinyal adımları anlamak için, 2-DE yapmıştır. *Arabidopsis* fide mikrozoamlarda proteinleri incelemek için kullanılmıştır. Isı muamelesi tespit edildikten sonra 5 dakika içinde değiştirilmiş bir sentezlenme seviyesi gösterilmiştir. Kütle spektrometresi kullanılarak 19 mikrozomal proteinden, anksin 1 (AtANN1) proteinin ısı-şok tedavisinden sonra hızla miktarının arttığı tespit edilmiştir. Fonksiyonel çalışmalar AtANN1 aşırı ifade eden bitkilerin bu tedaviye daha fazla direnç göstermiştir. AtANN1 ve yakın homolog AtANN2 için kayıp fonksiyon-mutantlar, tedavi-şok ısı daha duyarlı olduğunu göstermiştir. Buna uygun olarak, ısı-şok proteinleri ve ısı-şok faktörleri ısı ile uyarılan ifadesi, ann1/ann2 çift mutant ve sitoplazmik kalsiyum konsantrasyonunda ısıyla harekete geçen artış önlenmiştir. Birlikte ele alındığında ise bu sonuçlar, AtANN1 [Ca²⁺] Cyt ısı ile uyarılan artışı düzenlenmesinde ve ısı stresine *Arabidopsis* fide yanıt olarak önemli olduğunu göstermiştir (29).

Hayvan Proteom Uygulamaları

Doğanay (2005), *Hydatidosis*'de konak hassasiyetinin belirlenmesini amaçlamıştır. Koyun ve eşek orijinli protoskoleks verilerek sekonder *hydatidosis* oluşturulan beyaz farelerden elde edilen kist sıvıları ile koyun ve eşeklerdeki primer kistlerden elde edilen kist sıvıları SDS-PAGE yöntemi ile antijenik fraksiyonlarına ayırma işleminden sonra,

Western blot tekniği kullanımı ile enfekte fare ve insan serumları kullanarak spesifik protein bantları tespit edilmiştir. Fare serumu kullanılarak saptanan spesifik bantlar; eşek primer kist sıvısında 116, 24, 18 ve 8 kDa, eşek orijinli fare kist sıvısında 116, 24 ve 8 kDa, koyun primer kist sıvısında 8 kDa, koyun orijinli fare kist sıvısında 8 kDa olarak saptanmıştır. İnsan serumu kullanılarak saptanan spesifik bantlar; eşek primer kist sıvısında 116, 98, 88, 56 ve 8 kDa, eşek orijinli fare kist sıvısında 116, 98, 88, 8 kDa, koyun primer kist sıvısında 56, 48 ve 24 kDa, koyun orijinli fare kist sıvısında 24 kDa olarak tespit edilmiştir (30).

Gülaçtı ve arkadaşları (2005), sığır vebasası virüsünün (RPV) hemaglutinin proteinine (H) karşı monoklonal antikor (MA)'ların üretimine ve bu antikorların karakterize edilmesini amaçlayan bir çalışma planlamışlardır. Gerçekleştirilen çalışmada, ilk olarak, RPV'nin aşı suşuyla immunize edilen farelerin dalak hücreleriyle myeloma hücreleri polietilen glikol-dimetil sülfoksit (PEG-DMSO) yardımıyla füzyon işlemi tamamlanmıştır. "Limiting dilüsyon" işlemi takiben gerçekleştirilen SDS-PAGE ve immun blotting ile H proteinine karşı antikor salgılayan klonlar çalışma sonucunda ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca klonlara ait antikorların alt tipleri ve nötralizasyon etkileri gibi bazı özellikleri bu çalışma ile karakterize edilmiştir. Çalışma sonucunda, RPV virüsünün hemaglutinin proteinine karşı MA'ların üretilmesi ve bu antikorların karakterize edilmesi gerçekleştirilmiştir (31).

Koç ve arkadaşları (2013), Kars Çayı'ndan yakalanan Siraz balığı (*Capoeta capoeta*) ve Tatlısu kefali (*Squalius cephalus*) üzerine hegzavalent kromun Cr(VI) etkileri histopatolojik ve elektroforetik yöntemlerle araştırmayı amaçlamışlardır. Daha sonra, her bir balık türü için her grupta 10'ar adet olmak üzere üç grup oluşturulmuştur. Birinci gruptaki (kontrol) balıklar çeşme suyu içeren tankta, ikinci gruptaki balıklar 10 gün süreyle, üçüncü gruptaki balıklar ise 20 gün süreyle 10 mg/L dozunda Cr(VI) içeren tanklarda bekletilmiştir. Bu süre sonunda, balıklardan kan ve doku örnekleri alınmış ve analizleri

yapılmıştır. Histopatolojik inceleme sonucunda Cr(VI)'a maruz kalan *Capoeta capoeta* ve *Squalius cephalus*'ların karaciğer dokularında fokal nekroz alanları, hidropik ve vakuolar dejenerasyonlar belirlenmiştir. Bu dejenerasyonların şiddetinin Cr(VI) maruz kalma süresiyle artış gösterdiği tespit edilmiştir. Serum proteinlerinin SDS PAGE'inde ise 10 gün süreyle Cr(VI) uygulamasına maruz kalan *Capoeta capoeta*'nın bazı protein bantlarında hafif kalınlaşma olduğu, *Squalius cephalus*'un protein bantlarında ise belirgin bir değişikliğin şekillenmediği saptanmıştır. Hekzavalent kromun 20 gün süreyle uygulandığı *Capoeta capoeta*'nın birçok protein bantlarında incelemede, bazı protein bantlarında ise belirgin derecede kalınlaşmalar tespit edilmiştir. *Squalius cephalus*'da ise bazı protein bantlarında hafif derecede kalınlaşma meydana geldiği gösterilmiştir. Çalışma sonucunda, potasyum dikromat uygulamasının zamana bağlı olarak artan derecelerde *Capoeta capoeta* ve *Squalius cephalus* karaciğer dokularında ve protein ekspresyonlarında bozulmalara neden olduğu gösterilmiştir (32).

Ünübol-Aypak ve Uysal (2014) tarafından koyun ve farelerde kist hidatik proteinlerinin, antijenik proteinler ve antijenik glikoproteinler yönünden karşılaştırılması hedeflenmiştir. Bu amaçla 20'şer adet enfekte ve 10'ar adet sağlıklı koyun ve fare kullanılmıştır. Hidatidozisli koyunlardan ve deneysel enfekte farelerden elde edilen kist sıvısı, kist membranı ve protoskolekslere ait proteinler SDS-PAGE yöntemi ile ayırt edilmiştir. Ayırt edilen proteinlerden hangilerinin hastalığa spesifik antijenler içerdiği immunblot tekniği ile tespit edilmiştir. Koyun kist sıvısı, membran ve protoskolekslerde 116 kDa ile 26 kDa arasında, fare kist sıvısı ve membranlarında 106 ile 30 kDa arasında değişik sayılarda antijenik bantlar gözlemlenmiştir. Koyun kist sıvısı ile fare kist sıvısı arasındaki ortak antijenik bantların 40 kDa ve 26 kDa, koyun kist membranı ile fare kist membranı arasındaki ortak antijenik bantların 48 kDa ve 40 kDa olduğu belirlenmiştir. Koyunlarda her üç kist materyalinde de (kist sıvısı, kist membranı, protoskoleks) 116 kDa,

68kDa, 48 kDa'luk proteinlerin, farelerde her iki kist materyalinde de (kist sıvısı, kist membranı) 106 kDa, 48, 40 kDa'luk proteinlerin ortak glikoproteinler olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlara göre; koyun ve farelerin kist materyalleri arasında yapılan karşılaştırmada ortak bantların, molekül büyüklüğü, glikoprotein varlığı ve şeker yapıları yönünden benzerlikler ve farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir (33).

SONUÇ

Günümüzde klinik laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılmayan proteomik çalışmalar ölçüm sistemlerindeki teknolojik ilerlemelere paralel olarak kullanılmaya başlamıştır. Proteomik çalışmalar doğrultusunda özellikle protein haritaları çıkarılmaktadır. Bu protein haritaları ile inceleme alanları arasındaki yapısal farklılıkların belirlenmesi ve bu farklılıklar arasındaki bağlantının açığa çıkarılması amaçlanmaktadır. Son yıllarda özellikle proteomik çalışmalar hastalıklar, enfeksiyonlar, toksik ajanlar

veya ilaç gibi etkiler sonucu oluşan proteinlerin seviyeleri ve yapısal özelliklerinin belirlenmesi ve işlevlerinin aydınlatılmasını amaçlayan çalışmalarda bulunmaktadır.

Diğer taraftan proteom ile ilgili yapılan diğer çalışmalar farklı alanlarda da hızla ilerlemektedir. Özellikle; ekosistemde özellikle organik kirleticiler ve ağır metaller gibi diğer stres koşullarından birincil olarak etkilenen canlı grubu bakteri, liken, fungus ve bitki gibi organizmalardır. Bu biyolojik organizmalar biyotransformasyon ve biyobirikimde anahtar rolü oynamaktadır. Proteom analizi ile abiyotik veya biyotik stres yanıtın belirlenmesiyle ilgili çalışmalar henüz çok yeni olmakla birlikte bazı biyolojik organizmaların herhangi bir stres kaynağına maruz kalınca verdiği yanıtın ve savunma mekanizmalarında kullanılan proteinlerin araştırıldığı çalışmalar oldukça fazlaşmıştır. Özellikle ağır metal, tuzluluk, kuraklığa bağlı olarak proteomik değişiklikleri içeren proteom çalışmaları son yıllarda dikkat çeken araştırma alanlarından biri olmuştur.

TEŞEKKÜR

Finansal destek için TÜBİTAK (Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu)'a teşekkür ederiz. (Proje No: 115Z041)

KAYNAKLAR

1. Wilkins MR, Sanchez JC, Gooley AA, Appel RD, Humphery-Smith I, Hochstrasser DF, et al. Progress with proteome projects: Why all proteins expressed by genome should be identified and how to do. *Biotechnol Gen Engin Rev*, 1995; 13: 19-50.
2. Wilkins MR, Gasteiger E, Gooley AA, Herbert BR, Molloy MP, Binz PA, et al. High through put mass spectro. *Anadolu Uni J Sci Technol*, 1999; 6 (2): 135.
3. Özcengiz G. Proteomik: Post-genomik dönemin en güçlü teknolojisi. *ODTÜ Haber*, 2007; 15: 13-9.
4. Tang P, Liu JK, Chou SM, Hor LI, Chen WJ, Ching-Chen S. A proteomic analysis of *Klebsiella oxytoca* after exposure to succinonitrile. *Process Biochem*, 2008; 43: 753-7.
5. Srivastava AK, Bhargava P, Thapar R, Rai LC. Salinity-induced physiological and proteomic changes in *Anabaena doliolum*. *Environ Experimen Bot*, 2008; 64: 49-57.
6. Tran NP, Park JK, Hong SJ, Lee CG. Proteomics of protein associated with astaxanthin accumulation in the green algae *Haematococcus lacustris* under the influence of sodium orthovanadate. *Biotechnol Lett*, 2009; 12: 1917-22.
7. Tran, NP., Park, JK., Lee, CG. Proteomics analysis of proteins in green alga *Haematococcus lacustris* (Chlorophyceae) expressed under combined stress of nitrogen starvation and high irradiance. *Enzyme Microb Technol*, 2009; 45: 241-6.
8. Rustichelli C, Visioli G, KosteckaD, Vurro E, Sanita di Toppi L, Marmioli N. Proteomic analysis in the lichen *Psysica adscendens* expose to cadmium stress. *Environ Pollut*, 2008; 156(3): 1121-7.
9. Zörb C, Yan F, Schubert S, Sümer A. Evidence of Na⁺ toxicity for the vegetative growth of maize (*Zea mays* L.) during the first phase of salt stress. *Appl Bot Food Qual*, 2004; 78: 135-9.
10. Ahsan N, Lee DG, Lee SH, Kang KY, Lee JJ, Kim PJ, et al. Excess copper induced physiological and proteomic changes in germinating rice seeds. *Chemosphere*, 2007a; 67: 1182-93.
11. Ahsan N, Lee SH, Lee DG, Lee H, Lee SW, Bahk JD, et al. Physiological and protein profiles alternation of germinating rice seedlings exposed to acute cadmium toxicity. *Biologies*, 2007b; 330: 735-46.
12. Leea DG, Ahsana N, Leea SH, Leeb JJ, Bahka JD, Kanga KY, et al. Chilling stress-induced proteomic changes in rice roots. *Plant Physiol*, 2009; 166: 1-11.
13. Natarajan SS, Xu C, Cregan P, Caperna TJ, Garrett MW, Devanand L. Utility of proteomics techniques for assessing protein expression. *Regulat Toxicol Pharmacol*, 2009; 54: 32-6.
14. Toorchi M, Yukawa K, Nouri MZ, Komatsu S. Proteomics approach for identifying osmotic-stress-related proteins in soybean roots. *Peptides*, 2009; 30: 2108-17.
15. Zhang J, Ma H, Chen S, Ji M, Perl A, Kovacs L, et al. Stress response proteins 'differential expression in embryogenic callus of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon -A proteomic approach. *Plant Sci*, 2009; 2: 103-13.
16. Ahsan N, Lee DG, Kim KH, Alam I, Lee SH, Lee KW, et al. Analysis of arsenic stress induced differentially expressed proteins in rice leaves by two-dimensional gel electrophoresis coupled with mass spectrometry. *Chemosphere*, 2010; 78: 224-31.
17. Lee K, Bae DW, Kim SH, Han HJ, Liu X, Park HJ, et al. Comparative proteomic analysis of the short-term responses of rice roots and leaves to cadmium. *Plant Physiol*, 2010; 167: 161-8.
18. Monagasa M, Quintanilla-López JE, Gómez-Cordovésa C, Bartoloméa B, Lebrón-Aguilarc R. MALDI-TOF MS analysis of plant proanthocyanidins. *Pharmac Biomed Anal*, 2010; 51: 358-72.
19. Wen FP, Zhang ZH, Bai T, Xu Q, Pan YH. Proteomics reveals th effecets of giberellic acid (GA3) on salt-stressed rice (*Oryza sativa* L.) shoots. *Pl Sci*, 2010; 2: 170-5.
20. Fana W, Cuia W, Lia X, Chena S, Liua G, Shena S. Proteomics analysis of rice seedling responses to ovine saliva. *Pl Physiol*, 2011; 168: 500-9.

21. Hwang H, Cho MH, Hahn BS, Lim H, Kwon YK, Hahn TR, et al. Proteomic identification of rhythmic proteins in rice seedlings. *Biochim Biophysica Acta*, 2011; 1814: 470-9.
22. Zhao L, Sun YL, Cui SX, Chen M, Yang HM, Liu HM, et al. Cd-induced changes in leaf proteome of the hyper accumulator plant *Phytolacca americana*. *Chemosphere*, 2011; 1: 56-66.
23. Li J, Sun J, Yang Y, Guo S, Glick BR. Identification of hypoxic-responsive proteins in cucumber roots using a proteomic Approach *Pl Physiol Biochem*, 2012; 51: 74-80.
24. Ngara R, Ndimbab R, Borch-Jensenc J, Jensenc ON, Ndimbaa O. Identification and profiling of salinity stress-responsive proteins in *Sorghum bicolor* seedlings. *Proteom*, 2012; 75 (13): 4139-50.
25. Sarhadi E, Bazargani MM, Sajise AG, Abdolahi S, Vispo NA, Arceta M, et al. Proteomic analysis of rice anthers under salt stres. *Pl Physiol Biochem*, 2012; 58: 280-7.
26. Wang L, Ma H, Song L, Shu Y, Gu W. Comparative proteomics analysis reveals the mechanism of pre-harvest seed deterioration of soybean under high temperature and humidity stres. *Proteom*, 2012; 7: 2109-27.
27. Zheng M, Wang Y, Liu K, Shu H, Zhou Z. Protein expression changes during cotton fiber elongation in response to low temperature stres. *Pl Physiol*, 2012; 4: 399-409.
28. Rana B, Sreenivasulu Y. Protein changes during ethanol induced seed germination in *Aconitum heterophyllum*. *Pl Sci*, 2013; 198: 27-38.
29. Müller A, Langklotz S, Lupilova N, Kuhlmann K, Bandow JE, Leichert LI. Activation of Rida chaperone function by N-chlorination. *Nature Commun*, 2014; 17(5): 5804.
30. Doğanay A. Hydatidosisin Serodiagnozunda Kist Sıvısı Antijenlerinin SDS-PAGE ve Western Blotting Yöntemleri İle Karşılaştırmalı Analizi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi, Proje no: 08-10-059. 2005.
31. Gülaçtı İ, Bulut H, Bolat Y. Sığır vebası virüsünün hemaglutinin proteinine karşı monoklonal antikorun üretimi ve karakterizasyonu. *Fırat Üniv Sağ Bilim Vet Derg*, 2005; 19(1): 1-5.
32. Koç E, Yılmaz M, Ersan Y, Alaş A. Hekzavalent Kromun *Capoeta capoeta* (Guldenstaedt 1773) ve *Squalius cephalus* (Linnaeus 1758) üzerine olan etkisinin histopatolojik ve elektroforetik yöntemlerle saptanması. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 2013; 19 (6): 979-84.
33. Ünübol-Aypak S, Uysal H. Koyun ve farelerde kist hidatik proteinlerinin karşılaştırmalı analizi ve antijenik proteinlerde glikoprotein varlığının değerlendirilmesi. *Ank Üniv Vet Fak Derg*, 2014; 61: 243-8.

A		BARAN I.	1/49	DEMİRCİ M.	2/157
ACAR A.	1/49	BAYIK S.A.	1/1	DIANI M.	1/71
ACUNER İ.Ç.	1/25	BERBER İ.	2/121	DİKEN-ALLAHVERDİ T.	2/111
AÇIKGÖZ Z.C.	3/199	BEUY J.	2/99	DİKMEN D.	3/271-4/395
ADİLOĞLU A.K.	3/199	BİRİNCİ A.	2/175	DUMAN P.	3/221
AK A.	4/323	BOZ A.	3/233	E	
AKÇELİK N.	1/71	BOZKIRLI D.E.	1/15	EMİROĞLU M.	2/101
AKSOY A.	1/9-4/355-4/389	BÖREKÇİ D.	2/131	ERCAN E.	2/183
AKSOY-GÖKMEN A. ..	2/157	BUĞDADI	2/157	ERCAN M.	4/303
AKSU N.	1/1-1/49-4/355-4/389	BULUT C.	3/199	ERCİYAS A.	2/111
AKSU P.	2/111	BÜYÜKŞEKERCİ M. ..	4/303	ERDEM G.B.	3/199
AKTUNA G.	3/233	C - Ç		EREN E.	3/245
ALIŞKAN H.E.	1/15	CAMCI M.	2/157	ERGÖR G.	2/139
ALLAHVERDİ E.	2/111	CAN-GÜVEN E.	4/311	EROĞLU C.	1/25
ALTINDIŞ M.	3/293	CANSARAN-DUMAN D.	3/253-4/405	ERTUĞRUL Ç.	4/379
ALTINKUM S.M.	2/149	CEVİZCİ S.	4/365	G	
ALTINTAŞ L.	4/365	CİCİOĞLU-ARIDOĞAN B.	1/33	GAZİ U.	4/333
ARAS S.	3/253	CİRİT O.S.	3/211	GEDİK K.	4/311
ARIAFAR M.N.	1/71	ÇAKIR İ.	4/379	GENÇ Y.	1/9-1/49-4/355
ARPACI B.B.	4/323	ÇAKIR N.	4/333	GÜL S.	2/111
ARSLAN U.	2/101	ÇARHAN A.	2/183	GÜNAYDIN M.	1/25
ASLAN A.	3/253	ÇELEBİ B.	3/233	GÜR-DEDEOĞLU B.	1/81
ATAKAN-ERKAL F.	3/245	ÇELİK F.	3/221	GÜR-VURAL D.	3/267
AVŞAR C.	2/121	ÇETİN-ÇOBAN S.	3/221	GÜRKAN Y.	4/355
AYDOS A.	1/81	ÇİL A.	4/311	GÜVENİR M.	4/333
AYKAL G.	3/245	ÇOLAKOĞLU Ş.	1/15	GÜZEL M.	1/9
AYNALI A.	1/33	D		H	
B		DAL T.	3/293	HAMUTOĞLU R.	3/253
BAĞDATLI Y.	2/149	DEMİRBİLEK M.	1/15	HASÇELİK G.	3/199
BAKIR E.	3/279	DEMİRBİLEK Y.	3/221	HAZIROLAN G.	4/389
BAL C.	4/303			HEKİMOĞLU C.H.	1/55-2/161

73. CİLT YAZAR DİZİNİ / 73. ISSUE AUTHOR INDEX

HRISTOVA P.	1/9	ÖRS R.	2/101	TAŞTAN R.	4/365
I - İ		ÖZBEY N.	4/345	TATMAN-OTKUN M.	4/345
IRMAK H.	3/271-4/395	ÖZÇELİK R.	3/221	TAYFA Z.	2/111
İNFAI S.	1/39	ÖZEK D.	4/389	TEMEL F.	2/131-3/221-3/233
K		ÖZEL-DEMİRALP D. ..	4/405	TEZCAN D.	4/311
KANER G.	2/139	ÖZENOĞLU S.	4/405	TOLA E.N.	1/33
KANYILMAZ D.	4/355	ÖZGÜLCÜ Ş.	3/233	TORUN-GÜNGÖR O.	4/303
KARAKOÇ A.E.	3/199	ÖZTEMUR Y.	1/81	TURAN-UZUNTAŞ S.	2/149
KARATAŞ K.	4/323	ÖZTÜRK-ÇOŞKUN A.	3/199	TURHANOĞLU N.M.	3/267
KAYA S.	2/157	P		TUTKUN E.	4/303
KEMER Ö.E.	4/389	PARCIKLI G.	2/131	TUTUŞ C.	2/131
KOÇ M.	4/323	PEKTAŞ B.	2/157	U - Ü	
KOÇ O.	2/101	PETER J.C.	4/323	UYAR Y.	1/89-3/279
KOÇKAR M.	3/221	POLAT E.	2/149	ÜNAL N.	1/25
KORUKLUOĞLU G. ..	3/221	R		W	
KÖKSAL Ş.	2/139	RUH E.	4/333	WIWANIKIT W.	2/99
KURŞUN Ş.	1/1	S - Ş		Y	
KURT-KARAKUŞ P.B.	4/311	SERT S.	2/101	YALÇINKAYA T.	2/183
M		SESLİ-ÇETİN E.	1/33	YAZICI T.	3/211
MONCHEVA P.	1/9	SEZGİN B.	3/233	YEĞİN A.	3/245
MUMCUOĞLU İ.	1/1-4/355	SOYSAL A.	2/139	YILDIRIM A.K.	2/121
MÜDERRİS T.	3/211	SUCAKLI M.B.	2/131-3/221	YILDIZHAN H.	4/405
N		SÜER K.	4/333	YILMAZ F.	2/149
NUR G.	2/111	ŞAHİN H.	3/199	YILMAZ F.M.	4/303
O - Ö		ŞAHİN T.K.	1/39	YILMAZ H.	1/25
OĞUZ B.	4/311	ŞENOL M.	3/221	YILMAZ N.	3/245
ÖNAL S.	1/33	T		YULA E.	2/157
ÖNDE U.	3/199	TANRIVERDİ-ÇAYCI Y.	2/175		

73. CİLT YILLIK DİZİN / 73. ISSUE ANNUAL INDEX

Sayı / Number: 1 Cilt / Vol: 73 Yıl / Year: 2016

1. Seyit Ahmet BAYIK, İpek MUMCUOĞLU, Şenol KURŞUN, Neriman AKSU.....	1 - 8
Vankomisin dirençli enterokok suşlarının rep-PCR yöntemi ile klonal analizlerinin değerlendirilmesi Evaluation of clonal analysis of vancomycin-resistant enterococci strains by rep-PCR method	
2. Mustafa GÜZEL, Yasemin GENÇ, Altan AKSOY, Penka MONCHEVA, Petya HRISTOVA.....	9 - 14
Antibiotic resistance and metallo-beta-lactamase positivity in carbapenem-resistant nonfermentative Gram negative bacilli Karbapenemlere dirençli non-fermenter Gram negatif basillerde antibiyotik direnci ve metallo-beta-laktamaz pozitifliği	
3. Hikmet Eda ALIŞKAN, Emine Duygu BOZKIRLI, Şule ÇOLAKOĞLU, Müge DEMİRBİLEK.....	15 - 24
Hastanemizde üç yıllık süreçte kan kültürlerinden izole edilen <i>Candida albicans</i> ve nonalbicans <i>Candida</i> türlerinin etken olduğu kandidemilerdeki risk faktörlerinin irdelenmesi Evaluation of risk factors in candidemias caused by <i>Candida albicans</i> and non-albicans <i>Candida</i> species, isolated from the blood cultures for three years period in our hospital	
4. Cafer EROĞLU, Nevzat ÜNAL, Adil KARADAĞ, Hava YILMAZ, İbrahim Çağatay ACUNER, Murat GÜNAYDIN.....	25 - 32
Çeşitli klinik örneklerden 2006-2011 yılları arasında izole edilen <i>Acinetobacter</i> türleri ve antibiyotik duyarlılıkları <i>Acinetobacter</i> species isolated from various clinical specimens between 2006-2011 years and their susceptibilities against antibiotics	
5. Ayşe AYNALI, Buket CİCİOĞLU-ARIDOĞAN, Esra Nur TOLA, Süleyman ÖNAL, Emel SESLİ-ÇETİN.....	33 - 38
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran doğurganlık çağındaki kadınlarda gözlenen anti-Toxoplasma IgM ve IgG seropozitifliği Evaluation of anti-Toxoplasma IgM and IgG seropositivity among women in reproductive period, who admitted to Süleyman Demirel University Hospital	
6. Selma İNFAL, Tahir Kemal ŞAHİN.....	39 - 48
Bir üniversite hastanesindeki yardımcı personelin hastane enfeksiyonları ile ilgili bilgi ve tutumlarının değerlendirilmesi Evaluation of knowledge and attitudes of a university hospital auxiliary staff about hospital infections	
7. Irmak BARAN, Aydın ACAR, Yasemin GENÇ, Neriman AKSU.....	49 - 54
Olgu Raporu: <i>Vibrio alginolyticus</i> 'a bağlı bir eksternal otit olgusu Case Report: A case of otitis externa due to <i>Vibrio alginolyticus</i>	
8. Can Hüseyin HEKİMOĞLU.....	55 - 70
Aşı epidemiyolojisi: Aşı ve aşılamamanın etkileri için epidemiyolojik ölçütler Vaccine epidemiology: Epidemiologic measures of the effects of a vaccine and vaccination	
9. Maryam DIANI, Mohammad Nima ARIAFAR, Nefise AKÇELİK.....	71 - 80
İnsan ve hayvan sağlığı açısından risk oluşturan enterokokal biyofilm yapısının doğası The nature of enterococcal biofilm structure, a risk factor for human and animal health	
10. Alp AYDOS, Yasemin ÖZTEMUR, Bala GÜR-DEDEOĞLU.....	81 - 88
Polikistik over sendromu ve moleküler yaklaşımlar Polycystic ovary syndrome and molecular approaches	
11. Yavuz UYAR.....	89 - 98
Yeniden önem kazanan arboviral enfeksiyon etkeni: Zika virüs An re-emerging arboviral infectious agent: Zika virus	

Sayı / Number: 2 Cilt / Vol: 73 Yıl / Year: 2016

1. Joob BEUY, Viroj WIWANITKIT.....	99 - 100
Human brucellosis in Thailand: Reported cases summary Tayland'daki insan brusellozisi: Rapor edilmiş vakaların özeti	
2. Sadiye SERT, Melike EMİROĞLU, Uğur ARSLAN, Osman KOÇ, Rahmi ÖRS.....	101 - 110
Clinical characteristics and incidence of bacterial and viral pathogens in patients hospitalized with community acquired pneumonia in childhood in Konya between October 2008 and February 2010 Konya'da Ekim 2008 - Şubat 2010 tarihleri arasındaki çocukluk çağında toplum kökenli pnömoni tanısı ile hastaneye yatırılan hastalarda bakteriyel ve viral etkenlerin insidansı ve klinik özellikleri	
3. Pınar AKSU, Gökhan NUR, Süleyman GÜL, Ayşe ERCİYAS, Zeynep TAYFA, Tülay DİKEN ALLAHVERDİ, Ertuğrul ALLAHVERDİ.....	111 - 120
Genotoxic and cytotoxic effects of formic acid on human lymphocytes in vitro Formik asidin insan lenfositleri üzerindeki in vitro genotoksik ve sitotoksik etkisi	
4. Cumhuri AVŞAR, İsmet BERBER, Ahmet Kenan YILDIRIM.....	121 - 130
Sinop ilindeki hamsi ve zargana balıklarından <i>Vibrio</i> spp. izolasyonu ve karakterizasyonu Isolation and characterization of <i>Vibrio</i> spp. from anchovy and garfish in the Sinop province	
5. Celal TUTUŞ, Demet BÖREKÇİ, Gürcan PARCIKLI, Fehminaz TEMEL, Mustafa Bahadır SUCAKLI.....	131 - 138
2013 yılında Muğla ili Marmaris ilçesinde görülen <i>Staphylococcus aureus</i> enterotoksin kaynaklı gıda zehirlenmesinin değerlendirilmesi Evaluation of food poisoning of <i>Staphylococcus aureus</i> enterotoxin source in 2013 in the Marmaris district of Muğla, Turkey	
6. Şadan KÖKSAL, Ahmet SOYSAL, Gül ERGÖR, Gülşah KANER.....	139 - 148
İzmir'de sağlık kurumlarına yemek üretim ve dağıtım hizmeti veren bir firmada çalışanların gıda hijyeni ile ilgili bilgi ve davranışları The knowledge and behaviour of workers on food hygiene who worked in a company providing catering and distribution service to the health institutions in Izmir	
7. Erdal POLAT, Serdar Mehmet ALTINKUM, Fadime YILMAZ, Sema TURAN-UZUNTAŞ, Yaşar BAĞDATLI.....	149 - 156
İstanbul'un sivrisinek faunası ve <i>Culex pipiens</i> larvalarının <i>Bacillus</i> cinsi bakterilere karşı duyarlılığı The mosquito fauna of Istanbul and susceptibility of <i>Culex pipiens</i> larvae to <i>Bacillus</i> spp. bacteriae	
8. Ayşegül AKSOY-GÖKMEN, Bayram PEKTAŞ, Mehmet CAMCI, Celal BUĞDADI, Erkan YULA, Selçuk KAYA, Mustafa DEMİRCİ.....	157 - 160
Fascioliasis tanısında hekimlerde ERCP yerine serolojik test farkındalığı yaratmak: Olgu sunumu To create awareness of serological tests instead of ERCP for fascioliasis diagnosis among physicians: A case report	
9. Can Hüseyin HEKİMOĞLU.....	161 - 174
Aşı epidemiyolojisi: Aşı etkililiği için epidemiyolojik çalışma tasarımları Vaccine epidemiology: Epidemiologic study designs for vaccine effectiveness	
10. Asuman BİRİNCİ, Yeliz TANRIVERDİ-ÇAYCI.....	175 - 182
Mantar enfeksiyonlarının serolojik tanısı Serological diagnosis of fungal infections	
11. Ahmet ÇARHAN, Elif ERCAN, Tuğba YALÇINKAYA.....	183 - 198
Dijital PZR ve kullanım alanları Digital PCR and applications	

73. CILT YILLIK DİZİN / 73. ISSUE ANNUAL INDEX

Sayı / Number: 3 Cilt / Vol: 73 Yıl / Year: 2016

1.	Hünkar ŞAHİN, Ufuk ÖNDE, Ali Kudret ADILOĞLU, Ayşe Esra KARAKOÇ, Cemal BULUT, Ziya Cibali AÇIKGÖZ, Gül Bahar ERDEM, Gülşen HAŞÇELİK, Ayşegül ÖZTÜRK-ÇOŞKUN.....	199 - 210
	Ankara'daki çeşitli hastanelerden elde edilen <i>Acinetobacter baumannii</i> izolatları arasındaki klonal ilişkinin gösterilmesi ve antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi Evaluation of clonal relationship between <i>Acinetobacter baumannii</i> isolates and determination of resistance to antibiotics which were obtained from different hospitals in Ankara	
2.	Tuba MUDERRİS, Osman Sezer CİRİT, Tulin YAZICI.....	211 - 220
	Determination of serum hepatitis B virus DNA in HBV endemic region: Clinical significance and correlation with serological markers, ALT and AST HBV endemik bölgede serum HBV DNA düzeylerinin klinik önemi ve serolojik işaretler, ALT, AST ile ilişkisi	
3.	Pınar DUMAN, Yasemin DEMİRBİLEK, Fatma ÇELİK, Mehmet ŞENOL, Ramazan ÖZÇELİK, Murat KOÇKAR, Serap ÇETİN-ÇOBAN, Fehminaz TEMEL, Mustafa Bahadır SUCAKLI, Gülay KORUKLUOĞLU.....	221 - 232
	Akharım beldesinde musluk suyu kaynaklı gastroenterit salgını, Afyonkarahisar ili, Türkiye, Mayıs 2014 A gastroenteritis outbreak caused by contaminated tap water, Akharım town, Afyonkarahisar province, Turkey, May 2014	
4.	Ali BOZ, Gamze AKTUNA, Şenay ÖZGÜLCÜ, Berna SEZGİN, Fehminaz TEMEL, Bekir ÇELEBİ.....	233 - 244
	Afyonkarahisar ili Dinar ilçesinde 2015 yılı Ocak ayında görülen tularemi vakaları Tularemia cases in Dinar district, Afyonkarahisar province, January 2015	
5.	Güzin AYKAL, Fazıla ATAKAN-ERKAL, Ayşenur YEĞİN, Esin EREN, Necat YILMAZ.....	245 - 252
	HbA2 ölçümü için BioRad D-10TM ve Tosoh HLC 723 G8 HPLC sistemlerinin karşılaştırılması Comparison of the BioRad D-10TM and Tosoh HLC 723 G8 HPLC instruments for the detection of HbA2	
6.	Rasim HAMUTOĞLU, Ali ASLAN, Sümer ARAS, Demet CANSARAN-DUMAN.....	253 - 266
	Environmental risk assessment under the pollutants exposure with using four lichen species and molecular assay in cement plant, Aşkale-Erzurum (Turkey) Aşkale-Erzurum Çimento fabrikası etrafında maruz kalmış dört farklı liken türü kullanılarak yapılan moleküler boyutta çevresel risk değerlendirmesi	
7.	Nezire Mine TURHANOĞLU, Demet GÜR-VURAL.....	267 - 270
	Olgu sunumu; Yanıkta izole edilen <i>Bacillus licheniformis</i> Case report: The Burn isolated <i>Bacillus licheniformis</i>	
8.	Dilek DİKMEN, Hasan IRMAK.....	271 - 278
	European Union approach in monitoring drinking water quality: Emergency case management and risk analysis for the protection of public health İçme suyu kalitesinin izlenmesinde Avrupa Birliği yaklaşımı: Halk sağlığının korunması için acil durum yönetimi ve risk analizi	
9.	Yavuz UYAR, Esra BAKIR.....	279 - 292
	Batı Nil Virüsü (BNV) ve Türkiye'de Batı Nil Virüsü'nün güncel durumu West Nile Virus (WNV) and current status of West Nile Virus in Turkey	
10.	Mustafa ALTINDIŞ, Tuba DAL.....	293 - 302
	Yeni bir viral tehdit: Enterovirüs D68 A new viral threat: Enterovirus D68	

Sayı / Number: 4 Cilt / Vol: 73 Yıl / Year: 2016

1.	Ceylan BAL, Murat BıYIKŞEKERCI, MYJgan ERCAN, Oya TORUN-GİNGİR, Engin TUTKUN, Fatma Meri YILMAZ.....	303 - 310
	Kurşun maruziyetinin taranmasında saç ve idrar numunelerinin kullanılabilirliğinin araştırılması Investigation of the hair and urine samples' utility for screening lead poisoning	
2.	Emine CAN-GÜVEN, Ahmet ÇİL, Banu OĞUZ, Deniz TEZCAN, Kadir GEDİK, Perihan Binnur KURT-KARAKUŞ.....	311 - 322
	Zararlılarla mücadele adı altında semt pazarlarında satılan ürünlerin aktif içeriğinin incelenmesi Investigation of the active composition of products traded in local street bazaars for pest control	
3.	Bekir Bülent ARPACI, Ayhan AK, Kerim KARATAŞ, Mehmet KOÇ, Peter J. COTTY.....	323 - 332
	Kırmızı biberde aflatoksin oluşturmayan <i>Aspergillus flavus</i> izolatlarının belirlenmesi Determination of <i>Aspergillus flavus</i> isolates that do not produce aflatoxin in red pepper	
4.	Emrah RUH, Umut GAZİ, Meryem GÜVENİR, Kaya SÜER, Nedim ÇAKIR.....	333 - 344
	Antibiotic resistance rates of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> and <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolated from a university-affiliated hospital in North Cyprus Kuzey Kıbrıs'taki bir üniversite hastanesinden izole edilen <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> bakterilerinin antibiyotik direnç oranları	
5.	Nilgün ÖZBEY, Müşerref TATMAN-OTKUN.....	345 - 354
	Molecular typing and investigation of carbapenemases in carbapenem resistant <i>Acinetobacter baumannii</i> isolates Karbapenemlere dirençli <i>Acinetobacter baumannii</i> izolatlarında moleküler tiplendirme ve karbapenemazların araştırılması	
6.	Yasemin GEN, Yakup GİRKAN, İpek MUMCUOĞLU, Dilek KANYILMAZ, Altan AKSOY, Neriman AKSU.....	355 - 364
	Yoğun bakım hastalarında hastane kaynaklı pnömoni olgularının değerlendirilmesi ve sık görülen bakteriyel etkenlerin antimikrobial dirençlerinin araştırılması Evaluation of nosocomial pneumonia in intensive care unit patients and investigation of antimicrobial resistance of frequently encountered bacterial isolates	
7.	Rüştü TAŞTAN, Levent ALTINTAŞ, Sibel CEVİZCİ.....	365 - 378
	Kocaeli il merkezinde bulunan hastanelerde çalışan hemşirelerin zoonotik hastalıklar hakkındaki bilgi düzeylerinin belirlenmesi The determination of knowledge level of nurses working in the hospitals in the center of Kocaeli province about the zoonotic diseases	
8.	Çetin ERTUĞRUL, İbrahim ÇAKIR.....	379 - 388
	Comparison of conventional and rapid methods for determination of total aerobic mesophilic microorganisms and Enterobacteriaceae in poultry products Kanatlı eti ürünlerinde toplam aerobik mezofilik mikroorganizma ve Enterobacteriaceae belirlenmesinde klasik ve hızlı yöntemlerin karşılaştırması	
9.	Gülşen HAZIROLAN, Özlem Evren KEMER, Dilay ÖZEK, Altan AKSOY, Neriman AKSU.....	389 - 394
	Vorikonazol ile tedavi edilen bir <i>Aspergillus flavus</i> kompleks keratit olgusu A case of <i>Aspergillus flavus</i> complex keratitis treated with voriconazole	
10.	Dilek DİKMEN, Hasan IRMAK.....	395 - 404
	Alignment of new bathing water EU directive and its applications to protect public health Halk sağlığının korunması için yeni yüzme suyu AB direktifinin uyumlaştırılması ve uygulamaları	
11.	Sinem ÖZENOĞLU, Hatice YILDIZHAN, Duygu ÖZEL-DEMİRALP, Demet CANSARAN-DUMAN.....	405 - 418
	Farklı biyolojik organizmalarda proteomik uygulamalar Proteomic applications of different biological organisms	

TELİF HAKKI DEVRİ / COPYRIGHT RELEASE



TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU / PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

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

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

Makale Türü/Article Type:

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

Makale Başlığı/Article Entitled :

Sayın Editör,

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

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

Dear Editor,

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

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

(...1) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

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

(...2) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

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

(...3) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

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

(...4) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

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

(...5) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

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

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

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

TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU / PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

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

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

Tel/Phone : +90 312 565 55 79

Faks/Fax : +90 312 565 55 91

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

