



T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
HALK SAĞLIĞI GENEL MÜDÜRLÜĞÜ

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

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

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 80 ■ Sayı/Number 3 ■ Yıl/Year 2023

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

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü adına

On behalf of General Directorate of Public Health

Prof. Dr. Sedat KAYGUSUZ, Genel Müdür (General Director)

## EDİTÖR

EDITOR IN CHIEF

Doç. Dr. Hasan IRMAK (S.B. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü)

## EDİTÖR YARDIMCILARI

DEPUTY EDITORS

Prof. Dr. Ayşegül TAYLAN ÖZKAN (TOBB ETÜ Tıp Fakültesi)

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

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

Dr. Öğrt. Üye. Pınar MURSALOĞLU KAYNAR (Ankara Medipol Üni. Sağ. Hiz. MYO)

## YAYIN KURULU

EDITORIAL BOARD

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

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

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

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

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

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

## İSTATİSTİK EDİTÖRLERİ

STATISTICAL EDITORS

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

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

## İNGİLİZCE DİL EDİTÖRÜ

ENGLISH LANGUAGE EDITOR

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

## TEKNİK KURUL

TECHNICAL BOARD

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

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

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

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

## HALK SAĞLIĞI GENEL MÜDÜRLÜĞÜ

GENERAL DIRECTORATE OF PUBLIC HEALTH

ANKARA-TÜRKİYE

Yılda dört kez yayımlanır / Published four times per year

### Tasarım - Dizgi / Design - Editing :

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

### Baskı ve Cilt / Press and Binding :

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü / General Directorate of Public Health  
İdari ve Mali İşler Dairesi Başkanlığı - Matbaa / Administrative  
and Financial Affairs Department - Printing House  
Sağlık Mah. Adnan Saygun Cad. No:55 Sıhhiye/ANKARA  
Tel: +90 312 565 55 88

### Yayın Türü / Type of Publication :

Yerel Süreli Yayın / Periodical Publication

### Basım Tarihi / Date of Publication :

Eylül - 2023 / September - 2023

# 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, Botsvana

Dwight D. BOWMAN, ABD

Isme HUMOLLI, Kosova

Isuf DEDUSHAJ, Kosova

Iva CHRISTOVA, Bulgaristan

Johan LINDH, İsveç

Kosta Y. MUMCUOĞLU, İsrail

Manfred WEIDMANN, İngiltere

Paul HEYMAN, Belçika

Pauline MWINZI, Kenya

Roberto Caneta VILLAFRANCE, Küba

Sıraç DİLBER, İsveç

Susana RODRIGUEZ-COUTO, İspanya

Takashi AKAMATSU, Japonya

Varalakshmi ELANGO, Hindistan

## ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

A. Gülçin SAĞDIÇOĞLU-ÇELEP, Ankara

Abdülkadir HALKMAN, Ankara

Ahmet ÇARHAN, Ankara

Akçahan GEPDİREMEN, Bolu

Ali ALBAY, Ankara

Ali Kudret ADİLOĞLU, Ankara

Ali Naci YILDIZ, Ankara

Alp ERGÖR, İzmir

Alper AKÇALI, Çanakkale

Aşkın YAŞAR, Ankara

Ateş KARA, Ankara

Aydan ÖZKÜTÜK, İzmir

Aykut ÖZKUL, Ankara

Ayşegül GÖZALAN, Alanya

Ayşegül TAYLAN ÖZKAN, Ankara

Banu ÇAKIR, Ankara

Banu SANCAK, Ankara

Bayram ŞAHİN, Ankara

Bekir ÇELEBİ, Ankara

Belgin ÜNAL, İzmir

Berrin ESEN, Afyonkarahisar

Birce TABAN, Ankara

Bülent ALTEN, Ankara

Celal F. GÖKÇAY, Ankara

Cemal SAYDAM, Ankara

Cemile SÖNMEZ, 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

Ebubekir CEYLAN, Ankara

Emrah RUH, Kıbrıs

Ender YARSAN, Ankara

Erhan ESER, Manisa

Erkan YILMAZ, Ankara

Fatih BAKIR, Ankara

Fehminaz TEMEL, Ankara

Fügen DURLU ÖZKAYA, Ankara

Fügen YÖRÜK, Ankara

Gönül ŞAHİN, Ankara

Görkem MERGEN, Ankara

Gül ERGÖR, İzmir

Gül Ruhsar YILMAZ, Ankara

Gülberk UÇAR, Ankara

Gülnaz ÇULHA, Hatay

Gülnur TARHAN, Adıyaman

Hakan ABACIOĞLU, İzmir

Haluk VAHABOĞLU, İstanbul

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

## ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Hanefi ÖZBEK, İzmir	Oğuz GÜRSOY, Denizli
Hasan IRMAK, Ankara	Orhan BAYLAN, İstanbul
Hasan TEZER, Ankara	Orhan YILMAZ, Ankara
Hayrettin AKDENİZ, Bolu	Özlem KURT AZAP, Ankara
Hilal ÖZDAĞ, Ankara	Pınar MURSALOĞLU KAYNAR, Ankara
Hülya ŞİMŞEK, Yozgat	Pınar OKYAY, Aydın
Hürrem BODUR, Ankara	Rahmet GÜNER, Ankara
Işıl MARAL, İstanbul	Recep AKDUR, Ankara
İ. Mehmet Ali ÖKTEM, İzmir	Recep KEŞLİ, Afyonkarahisar
İpek MUMCUOĞLU, Ankara	Recep ÖZTÜRK, İstanbul
İrfan EROL, Ankara	Rıza DURMAZ, Ankara
İrfan ŞENCAN, Ankara	S. Aykut AYTAÇ, Ankara
İsmail CEYHAN, Ankara	Saime ŞAHİNÖZ, Gümüşhane
Kemal Osman MEMİKOĞLU, Ankara	Sami AYDOĞAN, Kayseri
Koray ERGÜNAY, Ankara	Sarp ÜNER, Ankara
Levent AKIN, Ankara	Seçil ÖZKAN, Ankara
Mahinur AKKAYA, Ankara	Seda KARASU YALÇIN, Bolu
Mehmet Ali ONUR, Ankara	Seda TEZCAN, Mersin
Mehmet Kürşat DERİCİ, Ankara	Selçuk KAYA, Çanakkale
Mestan EMEK, Antalya	Selim KILIÇ, Ankara
Metin KORKMAZ, İzmir	Selin NAR ÖTGÜN, Ankara
Mithat ŞAHİN, Kars	Sema BURGAZ, Ankara
Muhsin AKBABA, Adana	Semra Ayşe GÜREŞER, Çorum
Murat DİZBAY, Ankara	Sercan ULUSOY, İzmir
Mustafa AKSOY, Ankara	Sultan ESER, İzmir
Mustafa ERTEK, Ankara	Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Manisa
Mustafa Necmi İLHAN, Ankara	Sümer ARAS, Ankara
Mustafa Kasım KARAHOCAGİL, Kırşehir	Şule ŞENSES ERGÜL, Ankara
Mustafa Kemal BAŞARALI, Ankara	Tayfur Ata SÖKMEN, Hatay
Mustafa KAVUTÇU, Ankara	Turan BUZGAN, Ankara
Mükerrem KAYA, Erzurum	Yeşim ÖZBAŞ, Ankara
Nazan YARDIM, Ankara	Yunus Emre BEYHAN, Van
Nazime MERCAN, Denizli	Zafer ECEVİT, Ankara
Nazmi ÖZER, Ankara	Zafer KARAER, Ankara
Nilay ÇÖPLÜ, Ankara	Zati VATANSEVER, Kars
Nur AKSAKAL, Ankara	Zeynep GÜLAY, İzmir
Nur Münevver PINAR, Ankara	
Nuran ESEN, İzmir	

# TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ YAYIN İLKELERİ VE YAZIM KURALLARI

## I) AMAÇ VE KAPSAM

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

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

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

## II) YAYIN İLKELERİ

Dergiye, daha önce başka yerde yayımlanmamış ve yayımlanmak üzere başka bir dergide inceleme aşamasında olmayan yazılar kabul edilir.

Dergi Yayın Kurulu tarafından uygun görülen yazılar, konu ile ilgili en az iki Bilimsel Danışma Kurulu Üyesi'nden (Hakem'den) olumlu görüş alındığında yayımlanmaya hak kazanır. Hakemlerin ve yazarların isimleri gizli tutulur. Hakemler değerlendirme süreçlerini en geç üç ay içinde tamamlar. Bu kurulların, yazının içeriğini değiştirmeyen her türlü düzeltme ve kısaltmaları yapma yetkileri vardır.

Yazıların bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazarlara aittir.

Yazarlar araştırma ve yayın etiğine tam olarak uyum göstermelidir.

## III) TELİF VE LİSANS

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

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

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

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

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

## IV) AÇIK ERİŞİM POLİTİKASI

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

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

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

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

## V) ÜCRET POLİTİKASI

Makale gönderilmesi, değerlendirilmesi ve yayımlanması için **ücret alınmaz**.

## VI) ETİK KURALLAR

Araştırma ve yayın etiği kurallarına uymak yazarların sorumluluğundadır. Yazarlar **Helsinki Bildirgesi**'nde ana hatları çizilen ilkeleri izlemelidir. Yazarlar, bu tür bir çalışma söz konusu olduğunda, uluslararası alanda kabul edilen kılavuzlara ve yürürlükte olan tüm mevzuatta belirtilen hükümlere uymalıdır.

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

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

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

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

## VII) YAZI DİLİ

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

## VIII) YAZIM KURALLARI

Dergide yayımlanmak üzere gönderilen yazılar, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi yazım kurallarına göre hazırlanmalıdır.

Başvurular [www.turkhijyen.org](http://www.turkhijyen.org) adresinden "**Çevrimiçi Makale Gönder, Takip Et, Değerlendir**" programı aracılığıyla on line olarak yapılmaktadır.

Yayımlanmak üzere gönderilecek yazılar;

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

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

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

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

a. Yazının başlığı kısa olmalı ve küçük harfle yazılmalıdır.

b. Sayfa başlarına konan kısa başlık 40 karakteri geçmemelidir.

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

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü

Tel : (0312) 565 55 80

Faks : (0312) 565 55 91

e-posta : [hsgm.thdbd@saglik.gov.tr](mailto:hsgm.thdbd@saglik.gov.tr)

şirkette bir ilişki yoksa, başvuru yazısında belirtilmelidir.

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

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

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

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

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

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

## 8. Araştırma yazıları;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

14. Bu kurallara uygun olmayan metinler kabul edilmez.

15. Yazarlar teslim ettikleri yazının bir kopyasını saklamalıdır.



## I) AIM and SCOPE

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

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

The journal publishes biology, microbiology, infectious diseases, pharmacology, toxicology, immunology, parasitology, entomology, chemistry, biochemistry, food safety, environmental, health, public health, epidemiology, pathology, pathophysiology, molecular biology, genetics, biotechnology in the field of original research, case report, reviews, letters to the editor and technical reports.

## II) PUBLISHING POLICY

Articles which are not previously published in another journal or not currently under evaluation elsewhere can be accepted for the journal.

Articles approved by the Scientific Committee and Editorial Board are eligible to be released after receiving at least two positive opinions from the Scientific Committee members. The names of the reviewers and authors are kept confidential. Reviewers complete the evaluation processes within three months at the latest. Those committees have the authority to make all corrections and abbreviations but not to change the content of the article.

The authors have the all the scientific and legal responsibilities of the articles.

The authors must fully obey the ethics of research and publication.

## III) COPYRIGHT and LICENSING

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

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

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

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

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

## IV) OPEN ACCESS POLICY

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

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

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

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

## V) PRICE POLICY

Article submission, evaluation and publication are free.

## VI) ETHICAL RULES

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

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

In human research, a statement of the informed consent of those who participated in the study is needed in the section of the "Materials and Methods". In case of procedures that will apply to volunteers or patients, it should be stated that the study objects have been informed and given their approval before the study started. In case reports, information about the signed informed patient consent form should be included in the article. In case patient information (photograph, etc.) is used which shows patient ID, a written informed consent of the patient must be submitted.

In case animal studies, approval also is needed; it should be stated clearly that the subjects will be prevented as much as possible from pain, suffering and inconvenience. In animal experiments, the study should be conducted in accordance with the ethical regulations specified in the "Guide to the Care and Use of Laboratory Animals" ([www.nap.edu/catalog/5140.html](http://www.nap.edu/catalog/5140.html)) and the authors should declare that the ethics committee approval was obtained and the date and number of the ethics committee in the "Materials and Methods" section. Experimental and clinical drug studies performed in accordance with the Republic of Turkey Ministry of Health regulations and ethics committee approval must be stated in the article.

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

## VII) LANGUAGE of the JOURNAL

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

## VIII) WRITING RULES

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

Applications are made online at [www.turkhijyen.org](http://www.turkhijyen.org) via the "Online Manuscript Submit, Track, Evaluate Program".

Articles to be submitted for publication;

- \* Should have a high scientific level, be original and suitable for reference.
- \* Information and references should contain up-to-date data for the last 5 (five) years.

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

2. The title of article, Turkish title, short title, author name(s), names of institutions and the departments of the author(s), full address of the

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

corresponding author, telephone numbers (landline and mobile), e-mail address should be given.

- a. The title should be short and written in lower case.
- b. The short title should not exceed 40 characters.
- c. The study supported by a fund or scientific organisation must be mentioned in a footnote or in the acknowledgements.

d. The study presented in a conference/symposium must be mentioned with the type of presentation in footnotes or in the acknowledgements.

3. For Turkish studies; Terms used in articles should be in Turkish and Latin as much as possible, according to the latest dictionary of the "Turkish Language Institution". The language of the articles should be clear, and care should be taken to avoid spelling and writing mistakes.

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

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

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

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

### 8. Research Articles;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

9. **Research articles** should have up to 40 references.

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

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

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

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

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

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



## ETİK İLKELER VE YAYIN POLİTİKASI

### ETİK İLKELER

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

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

### ÇIKAR ÇATIŞMASI POLİTİKASI

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

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

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

### YAYIN POLİTİKASI ve HAKEM DEĞERLENDİRME SÜRECİ

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

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

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

## ETHICAL PRINCIPLES AND PUBLICATION POLICY

### ETHICAL PRINCIPLES

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

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

### CONFLICT OF INTEREST POLICY

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

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

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

### PUBLICATION POLICY and PEER REVIEW PROCESS

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

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

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

Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

General Directorate of Public Health

Tel : +90 312 565 55 80

Fax : +90 312 565 55 91

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

## YAZAR(LAR) İÇİN MAKALE KONTROL LİSTESİ

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

Ayrıca aşağıda belirtilen maddeleri dikkate alınız.

- Etik kurul onayı alındı.
- Bilimsel kuruluş ve/veya fon desteği belirtildi.
- Kongre/Sempozyumda sunumu ve sunum türü belirtildi.
- Varsa teşekkür bölümü oluşturuldu.

## TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

### CHECKLIST OF THE ARTICLE FOR AUTHOR(S)

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

Furthermore, please check.

- "Ethics Committee Approval" is given.
- Support to a study by a fund or organization is mentioned.
- Congress / Symposium presentations and the type of presentation are stated.
- Acknowledgement is given, if there is.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne  
[www.turkhijyen.org](http://www.turkhijyen.org) adresinden online olarak makale gönderilebilir  
Submissions can be made online at the address [www.turkhijyen.org](http://www.turkhijyen.org)  
to Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

INDEX COPERNICUS  
INTERNATIONAL

Scopus

ResearchGate

CAS<sup>®</sup>

A division of the American Chemical Society

Google  
scholar beta

Academic Journals Database  
disseminating  
quality controlled scientific knowledge

EBSCO  
HOST Electronic  
Journals  
Service

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

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

TUBITAK  
ULAKBİM

TURK MEDLINE  
TÜRK MEDLINE

TÜRKİYE ATIF DİZİNİ

GENAMICS<sup>™</sup>  
...research from your desktop

medoanet  
Mediterranean Open Access Network

Open  
J-Gate

## İLETİŞİM

## CORRESPONDENCE

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü  
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi Editörlüğü

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

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

Tel: 0312 565 55 80

Faks: 0312 565 55 91

e-posta: [hsgm.thdbd@saglik.gov.tr](mailto:hsgm.thdbd@saglik.gov.tr)

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

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



## ■ Araştırma Makalesi / Original Article

1. **Protective measures for healthcare professionals by the COVID-19 health belief model**  
Sağlık çalışanlarında COVID-19 sağlık inanç modeline göre koruyucu önlemler  
Seval ÇALIŞKAN PALA, Selma METİN TAŞ, Muhammed Fatih ONSUZ, Veli Görkem PALA, Ali KILINÇ,  
Ece Elif ÖCAL  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2023.98965 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")

---

2. **COVID-19 pandemi önlemleri rotavirüs ve/veya adenovirüs kaynaklı akut gastroenterit pozitiflik oranını azalttı**  
COVID-19 pandemic measures reduced the rate of acute gastroenteritis positivity caused by rotavirus and/or adenovirus  
Bahise Çağla TAŞKIN DALGIÇ, Gülgün YENİŞEHİRLİ, Murat AKKAN, Esra UZUNOĞLU ŞİRİN  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2023.46690 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

---

3. **Kırmızı pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) agarda *Cryptococcus neoformans*'ın pigment aktivitesinin incelenmesi**  
Pigment activity investigation of *Cryptococcus neoformans* on red pitahaya (*Hylocereus polyrhizus*) agar  
Sedef Zeliha ÖNER, Mustafa ŞENGÜL, Çağrı ERGİN  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2023.65481 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

---

4. **Karbapenem dirençli *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında *qacE*, *qacED1* ve *cepA* biyosit direnç genlerinin araştırılması**  
Investigation of *qacE*, *qacED1* and *cepA* biocide resistance genes in carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates  
Harun GÜLBUDAK, Elif EMİROĞLU, Yusuf GÖRGÜLÜ, Seda TEZCAN ÜLGER, Nuran DELİALİOĞLU, Gönül ASLAN  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2023.44538 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

---

5. **Determination of diversity of actinomycete in forest soil subject to different blood groups; Classical approaches before metagenomic**  
Farklı kan gruplarına bağlı orman topraklarında aktinomiset çeşitliliğinin belirlenmesi; Metagenomik öncesi klasik yaklaşımlar  
Fatma Şeyma GÖKDEMİR, Mazlum DOĞAN, Gönül ARSLAN AKVERAN, Sabiha ŞENGÖZ, Djursun KARASARTOVA, Ayşegül TAYLAN ÖZKAN  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2023.76753 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")

---

6. **Eklem yakınmaları olan hastalarda Parvovirus B19 IgG ve IgM seropozitiflik düzeylerinin araştırılması**  
Investigation of Parvovirus B19 IgG and IgM percentage of seropositivity in patients with joint complaints  
Mürşit HASBEK, Fatih ÇUBUK  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2023.58908 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

---

7. **Süperoksidge su içeren el antiseptiğinin etkinliğinin araştırılması**  
Investigation of the effectiveness of hand antiseptic containing superoxidized water  
Elif AYDIN, Emirhan BOZOĞLAN, Sinan DARCAN, Duygu PERÇİN RENDERS  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2023.68335 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

---

8. **Serum albumin düzeylerinin ölçümünde bromkrezol yeşili ve bromkrezol moru yöntemlerinin karşılaştırılması**  
Comparison of bromocresol green and bromocresol purple methods for measuring serum albumin levels  
Tevfik HONCA, Nesibe Nur AYDIN, İbrahim AYDIN, Fatih BAKIR  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2023.36675 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

---

9. **Regional performance evaluation of healthcare services in Türkiye with cross-efficiency approach**  
Çapraz etkinlik yaklaşımı ile Türkiye'deki bölgesel sağlık hizmetleri performansının değerlendirilmesi  
Hakan KAÇAK  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2023.34793 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")

---

10. **Evaluation of *Brucella* pericarditis cases by pooled analysis method**  
*Brucella* perikarditi olgularının havuz analiz yöntemiyle değerlendirilmesi  
Oğuz EVLİCE, Mustafa YILMAZ, Sevil ALKAN ÇEVİKER, Uğur KÜÇÜK  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2023.20633 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")

247 - 256



257 - 266



267 - 276



277 - 284



285 - 308



309 - 316



317 - 322



323 - 328



329 - 344



345 - 354





11. PCR-RFLP optimisation for *OPRM1* rs540825 and rs510769 gene polymorphisms and their allele/genotype frequencies in Turkish population  
*OPRM1* rs540825 ve rs510769 gen polimorfizmleri için PCR-RFLP yöntemi optimizasyonu ve Türk popülasyonundaki alel/genotip frekansları  
Selin ÖZKAN KOTİLOĞLU  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2023.43433 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")

355 - 364



12. The evaluation of telomere length and telomerase activity measurement in Neurofibromatosis type 1 NF1 tumors  
Nörofibromatozis tip 1 (NF1) tümörlerinde telomer uzunluğu ve telomerez aktivitesinin ölçülmesi ve değerlendirilmesi  
Parisa SHARAFI, Zeynep KILIÇ, Banu ANLAR, Ali VARAN, Sibel ERSOY EVANS, İbrahim VARGEL, Özlem YILDIRIM, Şükriye AYTER  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2023.59002 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")

365 - 372



## ■ Derleme / Review

13. Küresel ölçekte farklı ülkelerden örneklerle sağlık kurumlarında su, sanitasyon ve hijyen sorunları  
Water, sanitation and hygiene issues in healthcare facilities on a global scale with examples from different countries  
Emin ERKAL, Birgül PİYAL  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2023.68790 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

373 - 386



14. Türkiye'de çiçek aşısı üretimi, 1840-1980  
The production of the smallpox vaccine in Türkiye, 1840-1980  
Nuran YILDIRIM  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2023.60420 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

387 - 406



15. Medyaya yansıyan söylemlerin sağlık çalışanları ile hasta arasındaki şiddete etkisi  
The effect of disclaimer reflected in the media on violence between healthcare workers and patients  
Taylan MARAL, Mehmet ÖZDEMİR  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2023.92331 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

407 - 418



16. Transfüzyon uygulamalarında doğru endikasyon stratejileri ve hasta kan yönetimi  
Correct indication strategies and patient blood management in transfusion applications  
Büşra ACET YİĞİT, Mehtap BOLAT, Mustafa ALTINDIŞ  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2023.65475 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

419 - 426







# Protective measures for healthcare professionals by the COVID-19 health belief model

## Sağlık çalışanlarında COVID-19 sağlık inanç modeline göre koruyucu önlemler

Seval ÇALIŞKAN PALA<sup>1</sup> (ID), Selma METİNTAŞ<sup>2</sup> (ID), Muhammed Fatih ONSUZ<sup>2</sup> (ID), Veli Görkem PALA<sup>3</sup> (ID), Ali KILINÇ<sup>2</sup> (ID), Ece Elif ÖCAL<sup>4</sup> (ID)

### ABSTRACT

**Objective:** The Health Belief Model (HBM) is an effective instrument in explaining and measuring behaviors protecting and improving the health. It was aimed to evaluate the compliance of healthcare professionals (HCP), who are on the front-line in the combat with COVID-19 pandemic, with protective measures according to the HBM.

**Methods:** The present study is a cross-sectional study, which was carried out in the period in the first wave of epidemic in a province in the central Anatolian region of Turkey, with 316 ambulance medics serving. Compliance with protective measures was evaluated with an online form. The questionnaire consisted of questions related to the sociodemographic characteristics of the individuals (age, gender, marital status, etc.), variables related to health beliefs (chronic diseases, smoking and alcohol addiction, COVID-testing, etc.), the protective measures they applied during the COVID-19 process (staying at home, washing hands, wearing masks, etc.), and the COVID-19 HBM Scale questions created by the researchers through a literature review.

### ÖZET

**Amaç:** Sağlık İnanç Modeli (SİM), sağlığı koruyan ve geliştiren davranışları açıklamada ve ölçmede başarılı, etkin bir rehberdir. Çalışmada, COVID-19 pandemisiyle mücadelede ön safta bulunan sağlık çalışanlarının koruyucu önlemlere uyumunun SİM'e göre değerlendirilmesi amaçlandı.

**Yöntem:** Çalışma COVID-19 pandemisinin 12-24. haftasında Türkiye'nin Orta Anadolu bölgesinde bir ilde ön safta yer alan ambulans hizmet veren 316 sağlık çalışanında gerçekleştirilen kesitsel tipte bir araştırmadır. Koruyucu önlemlere uyum online form ile değerlendirildi. Anket formu, kişilerin sosyodemografik özellikleri (yaş, cinsiyet, medeni durum, vb.), sağlık inançları ile ilişkili değişkenleri (kronik hastalıklar, sigara ve alkol bağımlılığı, COVID-testi yaptıрма vb.) COVID-19 sürecinde uyguladıkları koruyucu önlemler (evde kalma, el yıkama, maske takma vb.) ile ilişkili sorular ve araştırmacılar tarafından literatür taraması ile oluşturulan COVID-19 SİM Ölçeği sorularından oluştu.

<sup>1</sup>Eskişehir Provincial Health Directorate, Eskişehir

<sup>2</sup>Eskişehir Osmangazi University, Medical Faculty, Department of Public Health, Eskişehir

<sup>3</sup>Eskişehir Provincial Health Directorate 112 Ambulance Service, Eskişehir

<sup>4</sup>Ardahan Provincial Health Directorate, Ardahan



İletişim / Corresponding Author : Seval ÇALIŞKAN PALA

Mustafa Kemal Atatürk Cad. No: 59 Odunpazarı Eskişehir - Türkiye

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

Geliş Tarihi / Received : 01.08.2022

Kabul Tarihi / Accepted : 16.12.2022

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.98965

Çalışkan Pala S, Metintaş S, Onsu MF, Pala VG, Kılınç A, Öcal EE. Protective measures for healthcare professionals by the COVID-19 health belief model. Turk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(3): 247 - 256

**Results:** In the study group, 63.0% of participants were female and the ages ranged from 20-60. The mean age  $\pm$ Standard Deviation (SD) was calculated to be  $32\pm 6.9$  years. After the analyses of the COVID-19 HBM, which consists of four sub-dimensions (perceived threat, perceived barriers, perceived benefit, cues to action, and self-efficacy) and includes 20 items, the scale explained 57.8% of the total variance. Factor loads of the items ranged from 0.44 to 0.89, and their total correlations ranged between 0.22 and 0.61. The Cronbach's alpha value was found to be 0.85. Overall, 71.8% of the participants were found to implement all the protective measures. In the study group, among those implementing all the protective measures, the scores of perceived threat ( $p=0.001$ ) and benefit ( $p=0.006$ ) sub-dimensions and the total score ( $p=0.001$ ) were found to be higher. The COVID-19 HBM scale score was found to be higher in those who were diagnosed with COVID-19, those who had a test, those who had an increased level of anxiety, and those who thought the pandemic would last longer than a year.

**Conclusion:** The COVID-HBM Scale developed in the study is a valid and reliable. According to the health belief model among healthcare professionals, perceiving COVID-19 as a threat and believing in the benefits of preventive measures is important for better control of the disease.

**Key Words:** COVID-19, health belief model, healthcare professionals

**Bulgular:** Çalışma grubunun %63.0'ü kadın ve yaşları 20-60 arasında değişmekte olup ortalaması  $\pm$ Standart Sapma  $32\pm 6.9$  yıl idi. COVID-19 SİM geçerlik ve güvenilirlik analizleri sonrasında dört alt alandan (Algılanan tehdit, Engel algısı, Yarar algısı, Eyleme geçiriciler ve Öz-yeterlilik) oluşan 20 madde içeren ölçek, toplam varyansın %57.8'ini açıkladı. Maddelerin faktör yükleri 0.44-0.89, toplam korelasyonları 0.22-0.61 arasında değişmekteydi. Ölçek Cronbach alfa değeri 0.85 bulundu. Çalışma grubundaki bireylerin %71.8'i tüm koruyucu önlemleri uygulamaktaydı. Çalışma grubunda tüm koruyucu önlemleri alanlarda algılanan tehdit ( $p=0.001$ ) ve yarar ( $p=0.006$ ) alt alanlarından ve ölçek toplamından ( $p=0.001$ ) alınan puan daha yüksek bulundu. COVID-SİM ölçek puanı bir yakınına COVID-19 teşhisi konulanlarda, test yaptıranlarda, kaygı düzeyi artanlarda ve pandeminin bir yıldan uzun süreceğini düşünenlerde daha yüksek tespit edildi.

**Sonuç:** Çalışmada geliştirilen COVID-SİM ölçeği geçerli ve güvenilir bir ölçektir. Sağlık çalışanları arasında sağlık inanç modeline göre COVID-19'u bir tehdit olarak algılamak ve önleyici tedbirlerin yararına inanmak hastalığın daha iyi kontrol altına alınması için önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** COVID-19, sağlık inanç modeli, sağlık çalışanları

## INTRODUCTION

Healthcare professionals are in the primary risk group during healthcare delivery in COVID-19 and similar future outbreaks, as they may acquire the infection and transmit the infection to health care recipients (1). As in the MERS and SARS outbreaks, healthcare professionals were primarily affected by the COVID-19 pandemic (2). In different studies

carried out around the world, COVID-19 positivity among healthcare professionals varies between 3.5 and 38.0% (3-6). In Turkey, it was determined that, of 1,900,000 COVID-19 cases reported as of February 2021, 120,000 (6.3%) cases were healthcare professionals and 375 healthcare professionals have lost their lives (7,8).

Besides protecting and improving the health and explaining the reasons for individuals' behaviors,



the Health Belief Model (HBM) is also an effective reference in explaining and measuring the factors motivating or preventing the individuals from coping with health problems (9). The general acceptance and popularity of the health belief model arise from its high predictive power and it has been designed to explain the reasons why individuals do not comply with the protective behaviors. In general, HBM consists of five sub-dimension, which are the combination of susceptibility and severity that is named “perceived threat”, behaviors developed against the risk named “perceived benefit” and “perceived barrier”, and the sub-dimensions of “cues to action” and “self-efficacy” mobilizing the individual against the risk (10).

The COVID-19 pandemic has again shown the importance of control measures for the transmission modes of infection. These measures can be successful only when adopted by the individuals. Since they are directly exposed to infected papers, their works are more difficult, and they have higher rates of anxiety, depressive mood, and high insomnia, those working at the frontline have to comply with the rules more than other healthcare professionals. Individuals’ beliefs, values, tendencies, and habits play important role in their right and wrong behaviors (11,12).

In the present study employing the HBM model, it was aimed to determine the compliance of healthcare professionals, who are on the front line in the struggle with the COVID-19 pandemic, with the protective measures.

## MATERIAL and METHOD

Designed as a cross-sectional study, the present study was carried out during the first wave of epidemic (12th - 24th weeks) in Turkey on the ambulance medics working in a province in the Central Anatolia region. Ethical approval and administrative permissions were obtained before the study. The study group consists of 316 (75.0%) of 420 ambulance personnel. Data were collected online due to the pandemic. The questionnaire was sent to the working group three

times and the participants were encouraged using verbal warnings.

## Data Collection Instruments

The questionnaire form consisted of items questioning the sociodemographic characteristics of individuals, variables related to their health beliefs, protective measures they applied during the COVID-19 process, and the COVID-19 HBM Scale, which was developed by the researchers with literature review.

## Development of the COVID-19 HBM

In the preparation of the COVID-19 HBM Scale, the factors and scales explaining the health belief models of different groups were analyzed and 30 relevant items were determined (13,14). The suitability and understandability of each scale item were evaluated by 8 experts (5 public health specialists, 3 emergency medicine specialists, and 2 paramedics). The content validity rates of the scale ranged between 0.8 and 1.0 and the content validity index was found to be 0.94.

Internal consistency (Cronbach’s alpha) coefficient and Inter-Class Correlation (ICC) analyses were used in assessing the reliability of this scale. The items having total item correlations higher than 0.20 were considered reliable (15). Cronbach’s alpha coefficients of 0.40 and below were considered to be not reliable, 0.40-0.60 to be reliable at low level, 0.60-0.80 to be very reliable, and 0.80-1.00 to be highly reliable (16). Eight items in the scale were excluded because their total item correlations were lower than 0.20.

Principal component analysis (PCA) and Varimax rotation were used in Exploratory Factor Analysis (EFA) for the structural validity. In factor analysis, Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) was found to be 0.844, and Bartlett’s test result was  $p < 0.001$ . Two items having factor loads below 0.30 were excluded from the scale. Confirmatory Factor Analysis (CFA) was used after the EFA. R studio program was used in assessing how compatible the factor structure of the scale was. In the confirmatory factor analysis, PNFI (Parsimony Normed Fit Index), PGFI (Parsimony Goodness of Fit Index), Root Mean Square Error of

Approximation (RMSEA), and Standardized Root Mean Square Residual (SRMR) among the most widely used fitness indices were calculated. PNFI and PGFI > 0.50 and RMSEA and SRMR < 0.08 were used as criteria for the acceptability levels of fit indices (17).

### Scoring

As a result, the scale items consist of 5-point Likert-type 20 items and four sub-dimensions ranging between 1-Strongly agree and 5-strongly disagree. The scores obtained from the sub-dimensions of the scale range between 7 and 35 for the "Perceived threat", 3 and 15 for the "Perceived barriers", 5 and 25 for the "Perceived benefits", 5 and 25 for the "Cues to action and Self-efficacy". The minimum score that could be obtained from the scale was 20, whereas the maximum total score was 100. It shows that as the score obtained from the scale increases, the perception of that area increases.

### Data Analysis

Statistical analysis was performed using Statistical Package of Social Sciences (SPSS) 15.0 package program and R studio program. Mean, SD, number and percentage (%) were used to evaluate the descriptive properties of the data. Exploratory and confirmatory factor analysis was used to establish the validity and reliability of the COVID-19 HBM scale. Kolmogorov-Smirnov test was used for determining if the total scale scores showed normal distribution. Since the data did not show normal distribution, Mann-Whitney U and Kruskal Wallis analysis were employed. The significance level was set at  $p < 0.05$ .

The study was approved by the Eskişehir Osmangazi University Ethics Committee (Date: 05.11.2020 and Number: E-25403353-0.50.99-107512).

## RESULTS

Female participants constituted 63.0% (n=199) of the study group and their ages ranged between 20 and 60 with the mean age  $\pm$ SD of 32  $\pm$ 6.9 years.

Of the healthcare professionals, 82.6% were in the age group of 25-44 years and 40.0% had an associate degree. Of the individuals in the study group, 7.3% (n=23) were physicians, 32.9% (n=104) paramedics, 54.4% (n=172) emergency medical technicians, and 5.4% (n=17) other (midwife, officer). Years of work ranged between 0 and 34 years, whereas the mean  $\pm$  SD was found to be 10.78  $\pm$  5.96.

At the end of factor analysis, it was determined that the scale consisting of four sub-dimensions explained 57.8% of the total variance. The factor loads of the items varied between 0.44 and 0.89 and total correlations between 0.22 and 0.61. Cronbach's alpha coefficient was found to be 0.85. Cronbach's alpha value was calculated to be 0.81 for "perceived threat" sub-dimension, 0.60 for "perceived barrier" sub-dimensions, 0.91 for "perceived benefit" sub-dimensions, and 0.70 for "cue to action" and "self-efficacy" sub-dimensions. In the study group, the mean value  $\pm$ SD of the scores obtained from the scale was found to be 78.5  $\pm$ 7.3, the median value to be 80.0, and the extreme values to be 41 and 90. As a result of the CFA; even though  $\chi^2/df$  value (3.72) was not below 3, SRMR (0.09) was excellent, RMSEA (0.08), PGFI (0.065) and PNFI (0.67) values showed an acceptable fit. The COVID-19 HBM Scale factor load, item total correlation value, and the percentage of agreement with the items in the study group are given in Table 1.

While 71.8% of the individuals in the study group were applying all protective measures, the most frequently applied protective measure was to wear a mask (96.4%), followed by complying with the physical distance rules (94.1%), washing hands (91.9%), staying at home (90.9%), and cleaning the frequently contacted areas during the day (77.9%). Among the measures that were not implemented, cleaning of the frequently contacted places during the day ranked first (22.1%), followed by staying at home (9.1%).

In the study group, the scores obtained from "perceived threat" and "perceived benefit" sub-dimensions among all protective measures were higher ( $p=0.001$ ). It was determined that those taking

all the preventive measures had a higher score from the preventive measures in COVID-19 HBM scale when compared to those not taking them ( $p=0.001$ ). The

distribution of the scores of the study group from the scale sub-dimensions by the status of implementing the protective measures is given in Table 2.

**Table 1.** COVID-19 HBM Scale total score distribution, factor load, total item correlation value, and item agreement percentages in the study group

	Factor load	Item total correlation	Item participation percentage (%)
<b>Perceived threat</b>			
1. COVID-19 has high mortality rate	0.757	0.413	62.0
2. The transmission mode of COVID-19 is high	0.549	0.467	91.1
3. I think being diagnosed with COVID-19 would a very serious condition	0.746	0.546	76.6
4. If I get COVID-19, it would be more serious than other diseases	0.742	0.556	61.7
5. If I am diagnosed with COVID-19, I would be afraid that I might die	0.613	0.478	40.2
6. If I am diagnosed with COVID-19, I would be worried that it might have long-lasting effects on my health	0.584	0.462	73.4
7. If I don't get COVID-19, I think I would live longer and healthier	0.508	0.482	50.9
<b>Cronbach's alpha value: 0.81</b>			
<b>Perceived barriers</b>			
8. I think other individuals like me will be diagnosed with COVID-19	0.587	0.322	52.2
9. If I'm diagnosed with COVID-19, I would be worried that I will infect those around me	0.611	0.235	94.3
10. If the pandemic continues, I think I would be diagnosed with COVID-19	0.810	0.220	51.9
<b>Cronbach's alpha value: 0.60</b>			
<b>Perceived Benefits</b>			
11. I can protect myself from COVID-19 by washing my hands regularly with soap and water	0.867	0.552	81.3
12. If I use a mask, I can protect myself from COVID-19	0.876	0.530	87.0
13. If I stay at home when I am out of work, I can protect myself from COVID-19	0.843	0.598	87.3
14. If I pay attention to the social distance principles, I can protect myself from COVID-19	0.885	0.605	88.3
15. Paying attention to the precautions will protect my family from COVID-19	0.626	0.458	93.7
<b>Cronbach's alpha value: 0.91</b>			
<b>Cues to action and self-efficacy</b>			
16. Television programs help protecting myself from COVID-19	0.443	0.327	60.1
17. My manager helps me protecting myself from COVID-19	0.776	0.311	95.6
18. Obligatory measures help me protecting myself against COVID-19	0.734	0.428	90.8
19. If I pay attention to all precautions, I can really be protected from COVID-19	0.518	0.452	71.2
20. I have the ability to follow all the preventive instructions against the disease	0.605	0.386	86.4
<b>Cronbach's alpha value: 0.70</b>			
<b>COVID-19 HBM Scale Cronbach's alpha value: 0.85</b>			

**Table 2.** Distribution of the scores obtained from the scale sub-dimensions in the study group by the status of implementing the protective measures

Sub-dimensions	Complied Median (Min-Max)	Ignored Median (Min-Max)	P (z/KW); p
Perceived threat	27 (12-35)	25 (11-35)	<b>3.639; 0.001</b>
Perceived barriers	12 (6-15)	12 (7-15)	0.711; 0.477
Perceived benefits	21 (9-25)	20 (12-25)	<b>2.745; 0.006</b>
Cues to action and self-efficacy	20 (12-25)	20 (8-25)	1.656; 0.098
COVID-19 HBM Scale Total Score	80 (53-100)	76 (51-100)	<b>3.549; 0.001</b>

As a result of the univariate analysis, the scores obtained from the COVID-19 HBM Scale increased among those with no change in anxiety level, those having a COVID-19 test, those having a relative diagnosed with COVID-19, and those thinking that COVID-19 will last longer than the first 1 year found high. The distribution of the scores obtained from the COVID-19 HBM scale according to some variables in the study group is given in Table 3.

“Perceived barrier” score in COVID-19 HBM scale was found to be higher among those with anxiety level increasing during the COVID-19 pandemic ( $p=0.017$ ), those having relatives diagnosed with COVID-19 ( $p=0.028$ ), and those thinking that the COVID-19 pandemic process would last long ( $p=0.031$ ). The perceived threat in the COVID-19 HBM scale was found to be associated with an increase in anxiety during the pandemic ( $p=0.001$ ).

In COVID-19 HBM scale, a weak correlation was found between perceived threat and perceived barrier ( $r=0.394$ ,  $p<0.001$ ), between perceived threat and perceived benefit ( $r=0.285$ ,  $p<0.001$ ), between perceived threat and cues to action and self-efficacy ( $r=0.282$ ,  $p<0.001$ ), besides the very weak correlation between perceived benefit and perceived barrier ( $r=0.112$ ,  $p<0.05$ ), and moderate ( $r=0.530$ ,  $p<0.001$ ) correlation between perceived benefit and cues to action and self-efficacy.

## DISCUSSION

The scale was developed in order to determine the factors associated with the compliance of healthcare professionals, who are fighting the COVID-19 pandemic, with the protective measures by the sub-dimensions of HBM model. It was found that the factors associated with the protective behavior of healthcare professionals regarding the COVID-19 pandemic can be evaluated by using the HBM model.

As a result of the EFA conducted to test the structural validity of the scale designed in parallel with the purpose of the study, the scale was divided into four sub-dimensions. Factor loads of the items in the scale ranged between 0.44 and 0.89 indicating that the scale is accepted as a good measure. The scale having Cronbach’s alpha coefficient of 0.85 is highly reliable. As a model with 20 items and 4 sub-dimensions developed using EFA, the “COVID-19 HBM Scale for Preventive Measures against COVID-19” was found to have a good fit with CFA. Moreover, the percentage of total variance explained was 57.8%. The rates of explained variance in all sub-dimensions and in the total of the scale were higher than 40.0% and it proves the structural validity of the scale (15-18). The scale was designed in five dimensions as in the HBM, but EFA and CFA gathered the “cues to action” and “self-efficacy” sub-dimensions in the

**Table 3.** Distribution of the scores obtained from the COVID-19 HBM scale by some of the variables in the study group

Variables	Mean(SD)	Median (Min-Max)	Test value (z/KW); p
<b>Age group (year)</b>			
18-24	78.6 (6.9)	78.0 (61.0-93.0)	0.016; 0.992
25-44	78.5 (9.0)	79.0 (51.0-100.0)	
45 and above	78.8 (8.9)	77.5 (62.0-93.0)	
<b>Gender</b>			
Female	79.2 (8.1)	80.0 (53.0-97.0)	1.751; 0.080
Male	77.5 (9.8)	76.0 (51.0-100.0)	
<b>Occupation</b>			
Doctor	78.4 (10.4)	78.0 (62.0-95.0)	3.621; 0.305
Paramedic	79.6 (8.5)	80.0 (53.0-100.0)	
Emergency medical technician	77.9 (8.9)	77.5 (51.0-100.0)	
Other (Midwife, officer...)	78.6 (8.9)	78.0 (69.0-98.0)	
<b>Years of work</b>			
0-5	78.3 (7.5)	78.0 (61.0-100.0)	3.413; 0.182
6-10	77.4 (9.2)	78.0 (51.0-100.0)	
11 and above	79.5 (8.9)	80.0 (53.0-100.0)	
<b>Experiencing COVID-19 symptoms in the last 1 month</b>			
No	78.6 (8.6)	78.0 (51.0-100.0)	0.134; 0.893
Yes	77.9 (11.2)	80.5 (58.0-94.0)	
<b>Have COVID-19 testing status</b>			
No	77.7 (8.5)	77.0 (53.0-100.0)	2.085; 0.037
Yes	79.4 (9.0)	80.0 (51.0-98.0)	
<b>Quarantine status</b>			
No	78.5 (8.9)	78.0 (51.0-100.0)	0.689; 0.491
Yes	79.2 (8.1)	80.0 (55.0-97.0)	
<b>If a relative is diagnosed with COVID-19</b>			
No	78.4 (8.9)	76.0 (51.0-100.0)	3.549; 0.001
Yes	80.6(7.1)	80.0(53.0-100.0)	
<b>The estimated end of the pandemic</b>			
0-1 year	68.3 (8.6)	70.5 (58.0-80.0)	2.970; 0.003
2 years and above	78.8 (8.7)	78.5 (51.0-100.0)	
<b>Increased anxiety level</b>			
No	75.4 (10.2)	74.0 (51.0-100.0)	3.817; 0.001
Yes	79.6 (7.9)	79.5 (53.0-98.0)	
<b>Total</b>	<b>78.5(7.3)</b>	<b>80.0(41.0-90.0)</b>	



same cluster. Gathering two relevant dimensions under a single dimension provided ease of use.

While 71.8% of the individuals in the study group were found to implement all the protective measures, the most common protective measure was determined as wear a mask with 96.4%. Rajoura et al. reported that 82.6% of doctors and 85.0% of nurses used masks in the workplace during the H1N1 influenza epidemic (19). The low frequency of protective measures might have arisen from low awareness, habit of wearing mask, and/or time constraints, and their importance not understood.

The “perceived threat” in the HBM model refers to the perceived sensitivity and severity. When individuals perceive themselves as susceptible to the disease and perceive its severity, they perceive this disease as a threat and tendency to perform protective behavior increases too (20). The perceived threat regarding the COVID-19 expresses how sensitive the individuals are to preventive measures because they perceive COVID-19 as a serious disease. In the present study, the perceived threat was determined as a significant variable regarding determining protective behaviors against COVID-19. In the study carried out by Kwok et al., it was reported that 70.3% of the participants were susceptible to coronavirus and 72.6% found the disease dangerous in terms of perceived sensitivity (21). In the present study, it was determined that 65.1% of the healthcare professionals agreed with the perceived threat. With the healthcare professionals knowing the characteristics of COVID-19, the course of the disease, its permanent effects and how to protect themselves, improvement can be achieved in the perceived threat area.

Perceived barriers refer to the difficulties that individuals perceive in adopting and implementing the protective behaviors (20). The perceived barrier in preventive measures against COVID-19 can be affected by many variables such as mental state, personality traits, difficulty of obeying, need for patience, and leaving the habits (13). The perceived barriers in the present study were not identified as an effective

variable in determining the protective behaviors against COVID-19. However, its score was found to be high among those having anxiety increased during the COVID-19 pandemic, those having a relative diagnosed with COVID-19, and those thinking that the pandemic would last longer. In previous studies, the perceived barriers have been reported as a variable that affects the protective behaviors against COVID-19 (14,21).

Perceived benefit refers to the individual's belief that the protective behavior recommended to protect from the disease or to reduce the severity of the disease would be beneficial (20). If healthcare professionals think that the recommended measures such as the use of masks, social distance, and hand-washing are beneficial in terms of prevention against COVID-19, these measures would be applied and the healthcare professionals would be protected effectively. In the present study, the perception of benefit was identified as one of the effective areas in predicting the protective behaviors against COVID-19. In improving the perceived benefit, measures such as hand hygiene, use of personal protective equipment, and social distance are strong motivations for protecting individuals' families and themselves against COVID-19.

Cue to action are triggers for individuals to take action while self-efficacy is effective in successfully sustaining the behavior required to produce results (20). The mass media, manager of the unit, mandatory practices, and having self-efficacy are effective in implementing COVID-19 protective measures. In the present study, cues to action and self-efficacy were not found to be effective in determining protective behaviors against COVID-19. In the study carried out by Kwok et al., cues to action were reported as effective factors in developing protective behaviors against COVID-19 (21). Obligatory practices for healthcare professionals may have hindered the effect of this sub-dimension and resulted in a statistically non-significant difference ( $p=0.098$ ). The mass media should be used for the development of “cues to action” and “self-efficacy” among healthcare professionals

and the motivation for protective measures should be maintained by administrative units.

In the present study, having a COVID-19 test and having a relative diagnosed with COVID-19 were found as variables that affect the HBM. If individuals perceive a condition as a threat, if they believe that the action will be beneficial, and if the expected benefits outweigh the barriers, then they take the action that they believe to reduce the risks (14,21). In the present study, it was determined that, when healthcare professionals perceive COVID-19 as a threat and believe in the benefit of protective measures, they adapt better to the preventive measures against COVID-19 within the context of HBM sub-dimensions.

Outbreaks may increase the anxiety in the community due to the risk of infection and death (22). In the present study, the scores obtained from the COVID-19 HBM scale were found to be higher among those having increased anxiety level and those having negative thoughts about the estimated

ending date of COVID-19. It is necessary to develop behaviors that transform perceived barriers by triggering anxiety and perceived threat into perceived benefit. In this context, it is recommended to apply HBM in suppression of COVID-19 (22). In a different study, compliance with preventive measures was reported to be significantly associated with lower depression, anxiety, and stress (24).

In conclusion, a valid and reliable scale consisting of 20 items related with the preventive measures against COVID-19 health belief model was developed. In the COVID-19 pandemic, perceiving COVID-19 as a threat and believing in the benefit of preventive measures is important to better control the disease among healthcare professionals. Identifying the key components of COVID-19-related HBM can help effectively implementing COVID-19 measures and positive progress can be made with interventions to be developed. The scale needs to be studied in different groups and detailed studies on this subject.

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

All authors took part in the following stages: Conceived and designed the analysis; Collected the data; Contributed data or analysis tools; Performed the analysis; Wrote the paper.

## ETHICS COMMITTEE APPROVAL

\* The study was approved by the Eskişehir Osmangazi University Ethics Committee (Date: 05.11.2020 and Number: E-25403353-0.50.99-107512).

## CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

## REFERENCES

1. Nguyen LH, Drew DA, Graham M, Amit DJ, Chuan GG, Joshi AD et al. Risk of COVID-19 among front-line health-care workers and the general community: a prospective cohort study. *The Lancet Public Health*, 2020; 5 (9): 475-83.
2. Peeri NC, Shrestha N, Rahman MS, Zaki R, Tan Z, Bibi S, et al. The SARS, MERS and novel coronavirus (COVID-19) epidemics, the newest and biggest global health threats: what lessons have we learned? *Int J Epidemiol*, 2020; 49 (3): 717-26.
3. Guan W, Ni Z, Hu Y, Liang W, Ou C, He J et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med*, 2020; 382 (18): 1708-20.
4. Hunter E, Price DA, Murphy E, Van der Loeff IS, Baker KF, Lendrem D et al. First experience of COVID-19 screening of health-care workers in England. *The Lancet*, 2020; 395 (10234): e77-e8.
5. Remuzzi A, Remuzzi G. COVID-19 and Italy: what next? *The Lancet*, 2020; 395 (10231): 1225-1228.
6. Folgueira MD, Munoz-Ruiperez C, Alonso-Lopez MA, Delgado R. SARS-CoV-2 infection in Health Care Workers in a large public hospital in Madrid, Spain. *J Hosp Infect*, 2020; 106 (2): 357-63.
7. Republic of Turkey, Minister of health, Press Briefing. The number of healthcare workers diagnosed with COVID-19 has exceeded 120 thousand. <https://www.saglik.gov.tr/TR,3187/basin-merkezi.html> (Accessed: December, 2020).
8. Turkish Medical Association, Lost healthcare workers, 2021. <https://siyahkurdele.com/> (Accessed: February, 2022)
9. Ajzen I, Fishbein M. The influence of attitudes on behavior. In *The handbook of attitudes*. 2nd edition. 2005: 173-222.
10. Rosenstock IM, Strecher VJ, Becker MH. Social learning theory and the health belief model. *Health Educ Q*. 1988; 15(2):175-83.
11. Naushad VA, Bierens JJ, Nishan KP, Firjeeth CP, Mohammad OH, Maliyakkal AM et al. A systematic review of the impact of disaster on the mental health of medical responders. *Prehosp Disaster Med*, 2019; 34(6):632-43.
12. Cai Q, Feng H, Huang J, Wang M, Wang Q, Lu X et al. The mental health of frontline and non-frontline medical workers during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: A case-control study. *J Affect Disord*, 2020; 275:210-5.
13. Sheppard J, Thomas CB. Community pharmacists and communication in the time of COVID-19: applying the health belief model. *Res Social Adm Pharm*, 2020; 17(1):1984-7.
14. Tong KK, Chen JH, Yu EWy, Wu AM. Adherence to COVID-19 Precautionary Measures: Applying the Health Belief Model and Generalised Social Beliefs to a Probability Community Sample. *Appl Psychol*, 2020; 12(4):1205-23.
15. Enochs LG, Smith PL, Huinker D. Establishing factorial validity of the mathematics teaching efficacy beliefs instrument. *Sch Sci Math*, 2000; 100(4), 194-202.
16. Abdi H, Williams LJ. Principal component analysis. *Wiley Interdiscip Rev Comput Stat*, 2010;2(4):433-59.
17. Schreiber JB, Nora A, Stage FK, Barlow EA, King J. Reporting structural equation modeling and confirmatory factor analysis results: A review. *J Educ Res*, 2006; 99(6), 323-38.
18. Lian LY. Development of Integrated Criteria for Selection and Monitoring of Subcontractors In Malaysia. PhD thesis, University of Putra Malaysia, 2017.
19. Rajoura OP, Roy R, Agarwal P, Kannan AT. A study of the swine flu (H1N1) epidemic among health care providers of a medical college hospital of Delhi. *Indian J Community Med*, 2011; 36(3):187.
20. Champion VL, Skinner CS. *The health belief model. Health behavior and health education: Theory, research, and practice*. 4th edition. Jossey-Bass. 2008: 45-65.
21. Kwok KO, Li KK, Chan HH, Yi YY, Tang A, Wei WI et al. Community responses during early phase of COVID-19 epidemic, Hong Kong. *Emerg Infect Dis*, 2020; 26(7), 1575.
22. Smith KM, Machalaba CC, Seifman R, Feferholtz Y, Karesh WB. Infectious disease and economics: The case for considering multi-sectoral impacts. *One Health*. 2019; 7:100080.
23. Mukhtar S. Mental health and emotional impact of COVID-19: applying health belief model for medical staff to general public of Pakistan. *Brain Behav Immun*, 2020; 87:28-9.
24. Cuiyan W, Riyu P, Xiaoyang W, Yilin T, Linkang X, McIntyre Roger S et al. A longitudinal study on the mental health of general population during the COVID-19 epidemic in China. *Brain Behav Immun*. 2020; 87:40-8.

## COVID-19 pandemi önlemleri rotavirüs ve/veya adenovirüs kaynaklı akut gastroenterit pozitiflik oranını azalttı

### COVID-19 pandemic measures reduced the rate of acute gastroenteritis positivity caused by rotavirus and/or adenovirus

Bahise Çağla TAŞKIN DALGIÇ<sup>1</sup> (ID), Gülgün YENİŞEHİRLİ<sup>2</sup> (ID), Murat AKKAN<sup>2</sup> (ID),  
Esra UZUNOĞLU ŞİRİN<sup>2</sup> (ID)

#### ÖZET

**Amaç:** Yeni koronavirus hastalığı 2019 (COVID-19) pandemisinden sonra SARS-CoV-2'nin yayılmasını engellemek için alınan önlemler diğer bulaşıcı hastalıkların görülme sıklığını da etkilemiştir. Bu çalışmada, COVID-19 pandemi sürecinde uygulanan enfeksiyon kontrol önlemlerinin çocukluk çağı akut gastroenteritlerinin önemli etkenleri olan rotavirüs ve enterik adenovirüsün pozitiflik oranına etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmamıza akut gastroenterit tanısı ile dışkıda rotavirüs antijen testi ve/veya enterik adenovirüs antijen testi çalışılan 0-18 yaş arası 1.911 çocuk hasta dahil edilmiştir. Rotavirüs ve enterik adenovirüs pozitiflik oranlarının pandemi öncesi (1 Ekim 2019 - 10 Mart 2020) ve sonrası (11 Mart 2020 - 31 Mayıs 2021) dönemde karşılaştırılması ve demografik verilerin dağılımı ki-kare yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Pandemi öncesi dönemde rotavirüs ve adenovirüs pozitiflik oranları %10,4 ve %3,3,

#### ABSTRACT

**Objective:** The measures taken to prevent the spread of SARS-CoV-2 after the new coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic also affected the incidence of other infectious diseases. In this study, it was aimed to investigate the effect of infection control measures applied during the COVID-19 pandemic on the rate of rotavirus and enteric adenovirus positivity, which are important factors of childhood acute gastroenteritis.

**Methods:** A total of 1,911 pediatric patients aged 0-18 years, who were diagnosed with acute gastroenteritis and who had stool rotavirus antigen test and/or enteric adenovirus antigen tests were included in our study. The comparison of rotavirus and enteric adenovirus positivity rates before the pandemic (October 1, 2019 - March 10, 2020) and after (March 11, 2020 - May 31, 2021) and the distribution of demographic data were evaluated using the chi-square method.

**Results:** Rotavirus and adenovirus positivity rates were 10.4% and 3.3% in the pre-pandemic period, and 5.0% and 2.3% in the post-pandemic period ( $p < 0.001$ ,

<sup>1</sup>Rize İl Sağlık Müdürlüğü, Halk Sağlığı Laboratuvarı, Rize  
<sup>2</sup>Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., Tokat



**İletişim / Corresponding Author :** Bahise Çağla TAŞKIN DALGIÇ  
Rize Halk Sağlığı Laboratuvarı Rize - Türkiye  
E-posta / E-mail : bahise91@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 21.03.2022  
Kabul Tarihi / Accepted : 16.12.2022

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.46690

Taşkın Dalgıç BÇ, Yenişehirli G, Akkan M, Uzunoğlu Şirin E. COVID-19 pandemi önlemleri rotavirüs ve/veya adenovirüs kaynaklı akut gastroenterit pozitiflik oranını azalttı  
Türk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(3): 257 - 266

pandemi sonrası dönemde ise %5,0 ve %2,3 bulunmuştur ( $p<0,001$ ,  $p=0,171$ ). Rotavirüs ve/veya enterik adenovirüs kaynaklı toplam akut gastroenterit sıklığı %13,3'ten %5,9'a düşmüştür ( $p<0,001$ ). Pandemi sonrası dönemde 13-24 aylık ve 2-4 yaş arası çocuklarda rotavirüs pozitifliği önemli ölçüde azalmıştır. Pandemi öncesi dönemde 5 yaş altı grupta rotavirus pozitiflik oranı 5 yaş üstü gruba göre anlamlı derecede yüksekti ( $p<0,001$ ), pandemi sonrası dönemde 5 yaş altı ve üzeri gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ( $p=0,066$ ). Pandemi öncesi rotavirüs pozitifliği ilkbahar ve kış aylarında sırasıyla %26,3 ve %13,1 iken pandemi sonrasında %8,2 ve %3,5 olarak tespit edilmiştir. Adenovirüs pozitifliğinde, yaş grupları, cinsiyet ve mevsimsel dağılım açısından iki dönem arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

**Sonuç:** Hijyen uygulamalarına ve sosyal mesafeye odaklanan COVID-19 enfeksiyon kontrol önlemleri, çocukluk çağı akut gastroenteritlerinin önemli patojenleri olan rotavirüs ve enterik adenovirüsün pozitiflik oranını azaltmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** COVID-19, rotavirüs, adenovirüs, gastroenterit

$p=0,171$ ). The overall incidence of acute gastroenteritis caused by rotavirus and/or enteric adenovirus decreased from 13.3% to 5.9% ( $p<0,001$ ). In the post-pandemic period, rotavirus positivity in children aged 13-24 months and 2-4 years decreased significantly. In the pre-pandemic period, the rate of rotavirus positivity in the group under 5 years old was significantly higher than in the group over the age of 5 ( $p<0,001$ ), while there was no significant difference between the groups below the age of 5 and above in the post-pandemic period ( $p=0,066$ ). The positivity of rotavirus before the pandemic was 26.3% and 13.1% in the spring and winter, respectively, while it was 8.2% and 3.5% after the pandemic, There was no significant difference between the two periods in terms of adenovirus positivity, age groups, gender and seasonal distribution.

**Conclusion:** COVID-19 infection control measures focusing on hygiene practices and social distance have reduced the positivity rate of rotavirus and enteric adenovirus, which are important pathogens of childhood acute gastroenteritis.

**Key Words:** COVID-19, rotavirus, adenovirus, gastroenteritis

## GİRİŞ

2020 yılı, yeni koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19) pandemisinin herkesin hayatını büyük ölçüde etkilediği zaman olarak hatırlanacaktır. COVID-19 salgını, 2019 yılı aralık ayında Çin'in Hubei Eyaleti Wuhan kentinde etiolojisi bilinmeyen pnömoni olgularının bildirilmesiyle başladı. COVID-19'un etkeni SARS-CoV-2'nin hızla tüm dünyaya yayılmasıyla Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 11 Mart 2020'de pandemi ilan edildi (1). Türkiye'deki ilk COVID-19 vakası, 9 Mart 2020'de hastaneye başvuran 44 yaşında bir erkek hastaydı. Bu tarihten itibaren ülkemizdeki vaka sayıları giderek arttı ve

hastalığın önlenmesi ve salgın kontrolü için maske takma zorunluluğu, toplu yaşam alanlarına (restoran, eğlence mekanları, alışveriş merkezleri, düğün salonu, cami, çay bahçesi, kuaför, berber, güzellik salonu vb) girişlere ve aktivitelere (sinema, tiyatro, konser vb) kısıtlamalar getirilmesi, okullarda yüz yüze eğitime ara verilip uzaktan eğitime geçilmesi, seyahat kısıtlamaları gibi pek çok önlem alındı (2). Enfeksiyondan korunmak için halka, kapalı ortamların havalandırılması, ellerin sık sık sabun ve su ile yıkanması, genel temizlik kurallarına uyulması ve sosyal mesafenin gözetilmesi konularında radyo, televizyon ve sosyal medya gibi farklı iletişim kanallarında eğitimler verildi. Toplu yaşam

alanlarında antiseptik ve dezenfektan kullanımının arttırılması sağlandı (2). COVID-19'un yayılmasını engellemek için yapılan bu yaşam tarzı değişiklikleri, diğer bulaşıcı hastalıkların görülme sıklığını etkilemiştir (3). COVID-19 pandemisinden bu yana tıp ve sağlık alanında pek çok çalışma yayınlanmıştır. Solunum yolu virüslerinin pandemi sonrası dönemde prevelansının nasıl değiştiğine dair çok sayıda çalışma olmakla birlikte (3-5), gastrointestinal enfeksiyonların durumu ile ilgili az sayıda araştırma yapılmıştır (6). Rotavirüs, çocukluk çağı akut gastroenteritlerinin ülkemizde ve dünyada başlıca etiyolojik ajanıdır (7). Rotavirüs enfeksiyonları, 5 yaş altı çocuklarda yılda yaklaşık 128.515 ölümden sorumludur (8). Enterik adenovirüsler, dünya çapında önemli akut gastroenterit etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır (9). Her iki virüs de başlıca fekal-oral yolla ve kişiden kişiye yakın temasla bulaşmakta, kötü hijyenik koşullar, kontamine fomitelere olanak sağlayan kalabalık ortamlar (kreş, okul, ev dışı bakım merkezleri) virüsün bulaşında önemli rol oynamaktadır (10).

Çalışmamızda; 0-18 yaş arası akut gastroenteritli çocuklarda rotavirus ve enterik adenovirus pozitiflik oranlarını, hastaların demografik özellikleriyle birlikte pandemi öncesi ve sonrası dönem arasında karşılaştırmak ve pandemi önlemlerinin rotavirus ve enterik adenovirus pozitifliğine etkisini değerlendirmek amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamıza Ekim 2019 - Mayıs 2021 tarihleri arasında akut gastroenterit tanısıyla gaitada rotavirüs antijen testi (Türklab, Türkiye) ve/veya enterik adenovirüs antijen testi (Türklab, Türkiye) istenen hastalar dahil edilmiştir. Kullanılan rotavirüs/ adenovirüs antijen kiti (Türklab, Türkiye) rotavirüs Grup A,B ve C ve adenovirüs Grup B,C,D,F'yi (serotip 1,2,3,4,5,8,11,19,21,37,40,41) tanımlayabilmektedir. Hastaların demografik verileri geriye dönük olarak bilgi yönetim sisteminden elde edilmiştir. Mükerrer hastalar için ilk hastane başvurusundaki sonuçları

çalışmaya alınmış, diğer sonuçları elenmiştir. Hastaların yaş, cinsiyet ve gastroenteritinin görüldüğü tarih bilgileri Microsoft Office Excel programına aktarılmıştır. Hastalar yaş gruplarına göre: 0-12 ay, 13-24 ay, 2- 4 yaş, 5-16 yaş ve 16 yaş üzeri olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır.

1 Ekim 2019 - 10 Mart 2020 tarihleri arasındaki hastalar pandemi öncesi dönem ve 11 Mart 2020- 31 Mayıs 2021 tarihleri arasındaki hastalar pandemi sonrası dönem olarak iki kategoriye ayrılmıştır. Rotavirüs ve enterik adenovirüs pozitiflik oranının, pandemi öncesi ve sonrası dönemde karşılaştırılması ve mevsimlere, hastaların yaşlarına, cinsiyetlere göre dağılımı değerlendirilmiştir.

Sonuçların istatistiksel analizi Ki-Kare testi kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar %95 güven aralığında değerlendirilmiş ve istatistik anlamlılık sınırı  $p=0,05$  olarak kabul edilmiştir.

Bu çalışma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 07.10.2021, Karar no: 21-KAEK-213).

## BULGULAR

Ekim 2019 - Mayıs 2021 tarihleri arasında rotavirüs ve/veya enterik adenovirüs antijen testi yapılan 1.911 hasta çalışmaya alınmıştır. Hastalardan 1896'sının gaitasında hem rotavirüs antijen testi hem de enterik adenovirüs antijen testi çalışılmıştır. Sadece rotavirüs antijen testi istenen 11 hasta ve sadece enterik adenovirüs antijen testi istenen dört hasta bulunmaktadır. COVID-19 pandemisi öncesi dönemde 669 hastanın, COVID-19 pandemisi sonrası dönemde 1.242 hastanın gaitasında rotavirüs ve/veya enterik adenovirüs antijen testi çalışılmıştır.

Pandemi öncesinde akut gastroenterit tanısıyla gaitada rotavirüs antijen testi çalışılan 668 hastanın 70 (%10,4)'i pozitif bulunurken, pandemi sonrasında gaitada rotavirüs antijen testi çalışılan 1.239 hastanın 62 (%5)'si pozitif tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Pandemi öncesinde enterik adenovirüs antijen testi çalışılan 663 hastanın 22 (%3,3)'si pozitif olarak bulunmuştur.

Pandemi sonrasında ise enterik adenovirüs antijen testi çalışılan 1.237 hastanın 28 (%2,3)'ünde pozitiflik saptanmıştır ( $p=0.171$ ). Adenovirüs ve/veya rotavirüs kaynaklı akut gastroenterit pozitiflik oranı ise pandemi öncesinde %13,3 (89/669) pandemi sonrasında %6 (74/1242) olarak tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Rotavirüs ve enterik adenovirüs ko-enfeksiyonu pandemi öncesinde üç hastada pandemi sonrasında 16 hastada saptanmıştır (Tablo 1).

Pandemi öncesi dönemde rotavirüs pozitifliği en sık 13-24 ay arası çocuklarda (%15,7), pandemi sonrası dönemde 2-4 yaş arası çocuklarda (%7,6) tespit edilmiştir (Tablo 2). Pandemi sonrası dönemde 12-24 ay ve 2-4 yaş grubunda rotavirüs pozitiflik oranı

sırasıyla %9,5 ve %7,2 azalmıştır (Tablo 2). Pandemi öncesi dönemde 5 yaş altı grupta rotavirüs sıklığı 5 yaş üstü gruptan anlamlı düzeyde yüksek bulunurken ( $p<0.001$ ), pandemi sonrası dönemde 5 yaş altı ve üstü grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır ( $p=0.066$ ) (Tablo 3).

Adenovirüs pozitifliği açısından iki dönem karşılaştırıldığında yaş grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 4).

Rotavirüs sıklığı her iki dönemde de en yüksek ilkbaharda tespit edilmiştir. Pandemi sonrası dönemde hem kış hem de ilkbahar mevsimlerinde rotavirüs sıklığı önemli ölçüde azalmıştır ( $p<0.001$ ) (Tablo 5).

Tablo 1. Pandemi öncesi ve sonrası dönemde rotavirüs ve adenovirüs dağılımı

Akut gastroenterit kaynağı	Pandemi öncesi		Pandemi sonrası		p değeri
	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	
Adenovirüs	22 (3.3)	641 (96.7)	28 (2.3)	1209 (97.7)	$p=0.171$
Rotavirüs	70 (10.4)	598 (89.6)	62 (5.0)	1177 (95.0)	$p<0.001$
Rotavirüs ve/veya adenovirüs	89 (13.3)	580 (86.7)	74 (5.9)	1168 (94.1)	$p<0.001$

Tablo 2. Pandemi öncesi ve sonrası rotavirüs sıklığının yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş Grupları	Pandemi öncesi		Pandemi sonrası		p değeri
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
0-12 AY	8 (8.0)	92 (92.0)	6 (3.2)	182 (96.8)	$p=0.708$
13-24 AY	23 (15.7)	123 (84.3)	13 (6.2)	197 (93.8)	$p=0.003$
2-4 YAŞ	26 (14.8)	149 (85.2)	23 (7.6)	279 (92.4)	$p=0.012$
5-16 YAŞ	13 (5.4)	228 (94.6)	19 (3.7)	498 (96.3)	$p=0.273$
>16 YAŞ	0 (0.0)	6 (100.0)	1 (4.5)	21 (95.5)	$p=0.375$



Tablo 3. Pandemi öncesi ve sonrası rotavirüs sıklığının 5 yaş altı ve üstü yaş gruplarında dağılımı

Yaş Grupları	Pandemi öncesi		Pandemi sonrası		p değeri
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
0-5 yaş	57 (14.0)	364 (86.0)	42 (6.0)	658 (94.0)	p<0.001
>5 YAŞ	13 (5.0)	234 (95.0)	20 (4.0)	519 (96.0)	

Tablo 4. Pandemi öncesi ve sonrası adenovirüs sıklığının yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş Grupları	Pandemi öncesi		Pandemi sonrası		p değeri
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
0-12 AY	4 (4.0)	96 (96.0)	3 (1.6)	183 (98.4)	p=0.212
13-24 AY	7 (4.8)	139 (95.2)	4 (1.9)	206 (98.1)	p=0.121
2-4 YAŞ	7 (4.1)	164 (95.9)	8 (2.7)	292 (97.3)	p=0.396
5-16 YAŞ	4 (1.7)	235 (98.3)	13 (2.5)	504 (97.5)	p=0.468
>16 YAŞ	0 (0.0)	7 (100.0)	0 (0.0)	24 (100.0)	p=0.380

Tablo 5. Pandemi öncesi ve sonrası rotavirüs sıklığının mevsimsel dağılımı

Mevsim	Pandemi öncesi		Pandemi sonrası		p değeri
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
İlkbahar	10 (26.3)	28 (73.7)	29 (8.2)	323 (91.8)	p<0.001
Yaz	-	-	12 (3.1)	369 (96.9)	-
Sonbahar	14 (5.0)	266 (95.0)	15 (4.5)	319 (95.5)	p=0.767
Kış	46 (13.1)	304 (86.9)	6 (3.5)	166 (96.5)	p<0.001

Pandemi öncesi dönemde adenovirüs en sık kış aylarında (%4.3), pandemi sonrası dönemde ise en sık ilkbahar aylarında görülmüştür (%3.1). Pandemi öncesi ve sonrası dönem arasında adenovirüsün mevsimsel dağılımları arasında anlamlı fark

görülmemiştir (Tablo 6).

Rotavirüs ve/veya adenovirüs kaynaklı akut gastroenterit pozitifliği açısından pandemi öncesi ve sonrası dönem karşılaştırıldığında cinsiyet açısından bir tarafa üstünlük saptanmamıştır.

**Tablo 6. Pandemi öncesi ve sonrası adenovirüs sıklığının mevsimsel dağılımı**

Mevsim	Pandemi öncesi		Pandemi sonrası		p değeri
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
İlkbahar	1 (2.6)	37 (97.4)	11 (3.1)	339 (96.9)	p=0.862
Yaz	-	-	8 (2.1)	371 (97.9)	-
Sonbahar	6 (2.15)	273 (97.85)	5 (1.4)	330 (98.6)	p=0.540
Kış	15 (4.3)	331 (95.7)	4 (2.3)	169 (97.7)	p=0.247

## TARTIŞMA

Çalışmamızda, 0-18 yaş arası çocuklarda rotavirüs gastroenteriti, pandemi öncesine göre pandemi sonrasında anlamlı düzeyde düşerken, enterik adenovirüs enfeksiyonu pandemi sonrasında düşüş göstermekle birlikte her iki dönem arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Pandemi sonrasında rotavirüs ve/veya adenovirüs kaynaklı akut gastroenterit pozitiflik oranı ise anlamlı oranda düşüş göstermiştir. Ülkemizde COVID-19 pandemisi öncesinde son 10 yılda yapılan çeşitli çalışmalarda rotavirüs sıklığı %12-23 arasında (11-13), enterik adenovirüs sıklığı ise %3-5 arasında tespit edilmiştir (11-13). Dünya genelinde otuz iki ülkeden altmış altı çalışmanın dahil edildiği meta-analizde, rotavirüs prevelansının %0-%30 arasında değiştiği ve 5 yaş altı gastroenteritli çocuklarda %7.6 olduğu gösterilmiştir (14). Çalışmamızda pandemi sonrasında viral patojenlerin saptanma oranındaki bu düşüş, virüsün yayılma yoluyla yakından ilişkili gibi görünmektedir. Her iki virüste fekal-oral kontaminasyon veya insanlar

arasındaki yakın temas yoluyla bulaşmaktadır. Güvenli sosyal mesafeyi korumak, dışarı çıkmaktan kaçınmak, maske takmak, kapsamlı el temizliği ve dezenfektan kullanımının artırılması gibi COVID-19 bulaşını önleyici uygulamalar virüslere maruziyeti azaltmış olabilir. Diğer yandan enterik adenovirüs enfeksiyonlarındaki düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olmaması virüsün dezenfektan ve antiseptiklere dirençli yapısından kaynaklanmış olabilir.

Kore’de Ahn ve ark. COVID-19 sonrası gastrointestinal enfeksiyonların değişimini araştırdıkları çalışmalarında norovirüs, rotavirüs, enterik adenovirüs ve sapovirüs enfeksiyonlarının pandemi önlemlerinin sıklaştığı Mart 2020’den sonra önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada, bakteriyel gastrointestinal sistem patojenlerinin azalma eğiliminin viral patojenler kadar belirgin olmadığını göstermişlerdir ve bunun nedeninin gıda kaynaklı bulaş olabileceğini öne sürmüşlerdir (6). Dünyada beş yaşın altındaki hemen

hemen her çocuk rotavirüs enfeksiyonu riski altındadır (7). Bazı çalışmalarda rotavirüs en sık iki yaş altı çocuklarda görülürken (12), bazı çalışmalarda 2-4 yaş arası çocuklarda en yüksek prevalansına ulaşmıştır (11). Literatüre benzer şekilde, çalışmamızda rotavirüs enfeksiyonu pandemi öncesi dönemde en sık 12-24 ay arası çocuklarda, pandemi dönemde ise en sık 2-4 yaş arası çocuklarda ortaya çıkmıştır. Pandemi sonrasında, 16 yaş altı tüm gruplarında pandemi öncesi döneme göre rotavirüs kaynaklı gastroenterit sıklığının azaldığı tespit edilmiştir. Bu azalmanın rotavirüsün en sık görüldüğü 12-24 ay ve 2-4 yaş arası çocuklarda istatistiksel olarak anlamlı olması dikkat çekicidir. Ayrıca çalışmamızda, pandemi öncesi dönemde beş yaş altı çocuklarda rotavirüs sıklığı beş yaş üstü çocuklardan anlamlı oranda yüksek bulunurken, pandemi sonrası dönemde beş yaş altı ve üstü gruplar arasında anlamlı fark görülmemiştir. Anaokulu, kreş ve oyun parkı gibi ortamlarda yakın temasın sık olması, çocukların fekal-oral kontaminasyona bu yaş grubunda daha yatkın olması gibi sebeplerle beş yaş altı çocuklarda rotavirüs bulaşı kolaylaşmaktadır (15). Oyun parklarının pandemi sürecinde kapalı olması, okullardaki tam ya da kısmi kapanma önlemleri, el yıkamanın teşvik edilmesi, hijyen uygulamalarının artırılması ve maske takma uygulamaları, çalışmamızdaki 1-4 yaş arası çocuklarda rotavirüs pozitiflik oranındaki anlamlı azalmayı ve pandemi sonrası dönemde yaş grupları arasında anlamlı fark olmamasını açıklamaktadır. Ayrıca önlemler, ebeveynlerden ve daha büyük çocuklardan küçük çocuklara ev içi bulaşı azaltmış olabilir.

Rotavirüsün solunum yoluyla bulaşı kanıtlanmamıştır (15). Bazı çalışmalarda rotavirüs hastalarının %50'ye varan kısmında solunum yolu semptomlarının olması solunum yoluyla bulaş olasılığını düşündürmektedir (16,17). Ayrıca rotavirüs enfeksiyonu nedeniyle hastanede yatan çocukların odalarından alınan hava örneklerinde rotavirüs RNA'sının ön bulguları, hava yoluyla yayılmanın hastane ve kreş ortamlarında rotavirüsün ana bulaşma yolu olabileceğini akla getirmiştir (18). Çalışmamızda

pandemi sonrası dönemde rotavirüs pozitiflik oranındaki anlamlı düşüş, SARS-COV-2'nin damlacık yoluyla bulaşını önlemeye yönelik uygulanan maske takma zorunluluğu ve sosyal mesafenin korunması önlemlerin, rotavirüsün olası solunum yoluyla bulaşını da azaltmış olabileceği düşüncesini akla getirmektedir.

Enterik adenovirüsler her yaşta gastroenterit etkeni olabilir. Ancak yapılan çalışmalarda en sık iki yaş altı çocuklarda tespit edilmiştir (19,20). Çalışmamızda pandemi öncesi dönemde en sık 12-24 ay yaş grubundaki çocuklarda, pandemi sonrası dönemde ise 2-4 yaş arası çocuklarda görülmüştür. Her iki dönem arasında yaş grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Rotavirüs enfeksiyonları, ılıman iklime sahip gelişmekte olan ülkelerde en sık ilkbahar ve kış aylarında görülürken (12), adenovirüs gastroenteritleri tüm yıl boyunca görülebilmektedir (20). Çalışmamızda rotavirüs enfeksiyonları pandemi öncesi ve sonrası dönemde en sık ilkbahar aylarında görülürken, adenovirüs enfeksiyonları pandemi öncesinde kış aylarında, pandemi sonrasında ise ilkbahar aylarında en sık görülmüştür. Pandemi enfeksiyonlarının mevsimsel dağılımını etkilememiştir. Ancak pandemi sonrasında ilkbahar ve kış aylarında rotavirüs sıklığı, diğer mevsimlerden farklı olarak, anlamlı oranda düşüş göstermiştir. Bu da pandemi önlemlerinin virüs kontrolü üzerindeki etkisini yansıtmaktadır.

Küresel Hastalık, Yaralanma ve Risk Faktörleri Çalışması (GBD) 2016 yılı raporunda, diyare tüm yaşlar içinde sekizinci, beş yaşından küçük çocuklar arasında ise beşinci önde gelen ölüm nedenidir (8). Bunun yanında rotavirüs, beş yaşından küçük çocuklarda ve her yaşta ishal mortalitesinin önde gelen etiyolojisini oluşturmaktadır (8). Yapılan çalışmalar ishal morbiditesi ve mortalitesinin sağlık hizmetlerine, temiz suya ve sanitasyon erişiminin zayıf olduğu ve düşük gelirli toplumları orantısız bir şekilde etkilediğini göstermektedir (21). Bu hastalıkların önlenmesinde hem toplumsal hem de bireysel

düzye de uygulanacak hijyen iyileştirmelerinin önemi açıktır.

Rotavirüs aşısı sonrası, rotavirüs kaynaklı akut gastroenterit nedeniyle hastaneye yatışların önemli oranda azaldığıyla ilgili çalışmalar olmakla birlikte halen çocukluk çağında rotavirüs gastroenteriti hastaneye yatışlarda önemli bir yer tutmaktadır (22). Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC)'nin 2017 verisine göre; 46 Avrupa ülkesindeki beş yaşın altındaki her 100.000 çocuktan 300-600'ü rotavirüs enfeksiyonu nedeniyle hastaneye kaldırılmaktadır (23). Maruo ve ark. yaptıkları çalışmada COVID-19 pandemisi yılı 2020 de rotavirüs nedeniyle hastaneye yatışların 2017-2019 yıllarına kıyasla anlamlı ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir. Bu durumu ülkelerinde uygulanan kapsamlı COVID-19 enfeksiyon kontrol önlemlerine bağlamışlardır (24) .

Bir virüse karşı oluşan antiviral savunmaların uyarılması yoluyla, diğer virüslerin bloke edilebileceği viral interferans olayının pandemi sonrası dönemdeki rotavirüs, adenovirüs sıklığındaki azalışta etkisi olup olmadığı araştırılması gereken bir konudur.

Çalışmamızdaki hastaların SARS-CoV-2 ile enfekte

olma durumları bilinmemektedir. Bu nedenle viral interferans olayı değerlendirilememiştir. Gastroenteritli hastalarda antijen testi yapma kararı klinik hekiminin kararına bağlı olduğu için, tüm enfektif hastalarda test yapılmamış ve patojenin belirlenmediği durumlar olmuş olabilir. Çalışmamızda pandemi öncesinde dahil ettiğimiz tarihler içinde yaz aylarına ait hasta grubu olmadığı için pandemi sonrası dönemle yaz ayları enfeksiyon saptanma oranı açısından karşılaştıramamıştır. Bunlar çalışmamızın kısıtlılıklarıdır.

Sonuç olarak, çalışmamızda pandemi sonrası dönemde rotavirüs ve/veya adenovirüs kaynaklı gastroenteritlerde önemli bir azalma olduğu gösterilmiştir. Hijyen uygulamalarına ve sosyal mesafeye odaklanan COVID-19 enfeksiyon kontrol önlemleri, özellikle çocuk yaş grubu akut gastroenteritlerinin önemli patojenleri olan rotavirüs ve adenovirüs pozitiflik oranını azaltmıştır. Bu bulgular, salgın dışı dönemler içinde el yıkama, genel hijyen kurallarına uyulması gibi basit, uygulanabilir enfeksiyon kontrol önlemlerinin hastalık önlemede ne kadar önemli olacağına dikkat çekmektedir.

## ETİK KURUL ONAYI

\* Bu çalışma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 07.10.2021, Karar no: 21-KAEK-213)

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. World Health Organization (2020). Novel Coronavirus (2019- nCoV) situation reports. <https://www.who.int/news/item/27-04-2020-who-timeline---covid-19>. 2020
2. Demirbilek Y, Pehlivan Türk G, Özgüler ZÖ, Alp Meşe E. COVID-19 outbreak control, example of ministry of health of Turkey. *Turk J Med Sci*, 2020; 50: 489-94.
3. Ağca H, Akalin H, Sağlık İ, Hacimustafaoglu M, Çelebi S, Ener B. Changing epidemiology of influenza and other respiratory viruses in the first year of COVID-19 pandemic. *J Infect Pub Health*, 2021; 14(9): 1186-90.
4. Wee LE, Conceicao EP, Sim XY, Ko KK, Ling ML, Venkatachalam I. Reduction in healthcare-associated respiratory viral infections during a COVID-19 outbreak. *Clin Microbiol Infect*, 2020; 26(11): 1579-81.
5. Itaya T, Furuse Y, Jindai K. Does COVID-19 infection impact on the trend of seasonal influenza infection? 11 countries and regions, from 2014 to 2020. *Int J Infect Dis*, 2020; 97: 78-80.
6. Ahn SY, Park JY, Lim IS, Chae SA, Yun SW, Lee NM, et al. Changes in the Occurrence of Gastrointestinal Infections after COVID-19 in Korea. *J Korean Med Sci*, 2021; 36(24): e180.
7. Esona MD, Gautam R. Rotavirus. *Clin Lab Med*, 2015; 35(2): 363-91.
8. GBD 2016 Diarrhoeal Disease Collaborators. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoea in 195 countries: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Infect Dis*, 2018; 18: 1211-28.
9. Posovszky C, Buderus S, Classen M, Lawrenz B, Keller KM, Koletzko S. Acute infectious gastroenteritis in infancy and childhood. *Dtsch Arztebl Int*, 2020; 117(37): 615.
10. Crawford SE, Ramani S, Tate JE, Parashar UD, Svensson L, Hagbom M, et al. Rotavirus infection. *Nat Rev Dis Primers*, 2017; 3(1): 1-16.
11. Bicer S, Col D, Erdag GC, Giray T, Gurol Y, Yılmaz G, et al. A retrospective analysis of acute gastroenteritis agents in children admitted to a university hospital pediatric emergency unit. *Jundishapur J Microbiol*, 2014; 7(4).
12. Dinç HÖ, Taner Z, Özbey D, Gareayaghi N, Sirekbasan S, Kocazeybek BS. Çocukluk yaş grubu gastroenteritlerinde rotavirüs ve adenovirüs sıklığı: Ocak 2013-Aralık 2018 Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Verileri. *Türk Mik Cem Derg*, 2019; 49(4): 206-11.
13. Çömçe M, Kafadar D, Erol M, Yiğit Ö. Akut gastroenteritle acile başvuran pediatrik popülasyonda rotavirüs ve adenovirüs enfeksiyonlarının retrospektif analizi. *J Pediatr Inf*, 2017; 11(4): 153-60.
14. Arakaki L, Tollefson D, Kharono B, Drain PK. Prevalence of rotavirus among older children and adults with diarrhea: A systematic review and meta-analysis. *Vaccine*, 2021; 39: 4577-90.
15. Sengupta P. Rotavirus: The Challenges Ahead. *Indian J Community Med*, 2009; 34(4): 279-82.
16. Parashar UD, Bresee JS, JR, Glass RI. Rotavirus. *Emerg Infect Disease*, 1998; 4: 561-70.
17. Fragoso M, Kumar A, Murray DL. Rotavirus in nasopharyngeal secretions children with upper respiratory tract infections. *Diagn Microbiol Infect Disease*, 1986; 4: 87-8.
18. Dennehy PH, Nelson SM, Crowley BA, Saracen CL. Detection of rotavirus RNA in hospital air samples by polymerase chain reaction (PCR). *Pediatr Res*, 1998; 43: 143A.

19. Terzi HA, Aydemir Ö. Akut gastroenteritli hastalarda rotavirüs ve adenovirüs sıklığının araştırılması; Sakarya. Sakarya Tıp Derg, 2018; 8(4): 746-52.
20. Dağı HT, Fındık D. Akut gastroenteritli hastalarda rotavirüs ve adenovirüs antijenlerinin araştırılması. Jo Clin Exp Invest, 2014; 5(2): 256-60.
21. GBD 2015 Diarrhoeal Diseases Collaborators. Estimates of global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoeal diseases: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. Lancet Infect Dis, 2017; 17: 909-48.
22. Shah MP, Dahl RM, Parashar UD, Lopman BA. Annual changes in rotavirus hospitalization rates before and after rotavirus vaccine implementation in the United States. PLoS One 2018; 13(2): e0191429.
23. ECDC. European Centre for Disease Prevention and Control: Expert opinion on rotavirus vaccination in infancy. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/expert-opinion-rotavirus-vaccination-infancy>. 2017.
24. Maruo Y, Ishikawa S, Oura K, Shiraishi H, Sato N, Suganuma T, et al. The impact of COVID-19 pandemic on pediatric hospitalization in Kitami, Japan. Pediatr Int, 2022; 64(1): e14937

## Kırmızı pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) agarda *Cryptococcus neoformans*'ın pigment aktivitesinin incelenmesi

### Pigment activity investigation of *Cryptococcus neoformans* on red pitahaya (*Hylocereus polyrhizus*) agar

Sedef Zeliha ÖNER<sup>1</sup> (ID), Mustafa ŞENGÜL<sup>1</sup> (ID), Çağrı ERGİN<sup>1</sup> (ID)

#### ÖZET

**Amaç:** *Cryptococcus neoformans* insanlarda hayatı tehdit eden ciddi kriptokokkoz tablosuna neden olmaktadır. Bu türler doğada kolonize olarak çevreden konağa bulaşmaktadır. *C. neoformans*'ın tanımlanabilmesi amacıyla çeşitli besiyerleri üretilmiştir. Maya, melanin öncülü pigmentlerin bulunduğu besiyerlerinde melanin üretimi sayesinde kolaylıkla tanımlanır. Ülkemizde yeni yayılmaya başlayan kırmızı pitaya (*Hylocereus polyrhizus*), flavonoid pigmentler bulundurulur. Bu çalışmada, beyaz ve kırmızı pitaya meyvelerinden yeni tanımlanarak hazırlanan besiyerlerinde *C. neoformans*'ın pigment oluşumunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Araştırmaya çevresel araştırmalardan izole edilmiş ve moleküler tanımlaması yapılmış 13 *C. neoformans* kökeni dahil edildi. Araştırmada iki farklı pitayanın [beyaz pitaya (*Hylocereus undatus*) agar (BPA) ve kırmızı pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) agar (KPA)] mezokarp ve endokarpı kullanılarak besiyerleri hazırlandı. Staib agar ve patatesli dekstroz agar

#### ABSTRACT

**Objective:** *Cryptococcus neoformans* causes life-threatening severe cryptococcosis in humans. These species are colonized in the nature and are spread from the environment to the host. Various media have been produced for the identification of *C. neoformans*. Yeast is easily identified due to the production of melanin in culture media containing pigment precursors. The red pitahaya (*Hylocereus polyrhizus*) which has just started to planted in our country has flavonoid pigments. In this study, it was aimed to evaluate the melanin pigment production of *C. neoformans* in the agar media prepared by newly defined from white and red pitahaya fruits.

**Methods:** Molecularly confirmed thirteen environmental strains of *C. neoformans* were included in the study. In the study, in-house media were prepared from two different pitahaya [white pitahaya (*Hylocereus undatus*) agar (WPA) and red pitahaya] with mesocarp and endocarp parts of the fruits. Staib agar and potato dextrose agar media were used as positive and negative controls. *Candida albicans* has been used

<sup>1</sup>Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., Denizli



İletişim / Corresponding Author : Sedef Zeliha ÖNER

Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., Kınıklı, Denizli - Türkiye

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

Geliş Tarihi / Received : 11.01.2021

Kabul Tarihi / Accepted : 19.09.2022

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.65481

Öner SZ, Şengül M, Ergin Ç. Kırmızı pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) agarda *Cryptococcus neoformans*'ın pigment aktivitesinin incelenmesi  
Turk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(3): 267 - 276



besiyerleri pozitif ve negatif kontrol olarak kullanıldı. *Candida albicans* ise pigmentless maya olarak çalışıldı. Kökenler 24 kuyucuklu steril polistren plaklarda üretildi ve bir hafta süre ile pigment üretimi ölçümü Fiji/ImajeJ (GPLv3, NIH, ABD) programı kullanılarak yapıldı.

**Bulgular:** KPA besiyerlerine yapılan ekimlerde göz ile kolaylıkla pigmentless *C. albicans* maya kolonilerinden ayrılabilen kahverengi pigmentli kolonilerin oluştuğu görüldü KPA besiyerinde oluşan koloni pigmenti Staib agarda oluşana göre daha azdı. Staib agarda *C. albicans* kolonileri daha büyük iken, KPA'da *C. neoformans* daha mukoid koloniler oluşturdu. Bir haftalık inkübasyon sonunda KPA, BPA'dan daha yoğun pigment oluştururken, Staib agar besiyerinden daha az pigment oluşumuna yol açtı ( $p<0.05$ ). Negatif kontrol olan PDA besiyerinde ise pigment gözlenmedi.

**Sonuç:** KPA besiyerinde pigment oluşumu, Staib agar besiyerine göre daha az olmasına rağmen, KPA besiyeri *C. neoformans*'ın pigment oluşumunun gösterilmesinde kullanılabilir. *C. neoformans*'ın pigment yapımının araştırılmasında kullanılan fenolik içerik bulunduran kolaylıkla ulaşılabilir çevresel kaynaklar, ucuz ve basit ayırteci/tanımlayıcı besiyerlerinin yapılması için önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** *Cryptococcus neoformans*, kırmızı pitaya agar, beyaz pitaya agar, besiyeri, pigment ölçümü

for nonpigmented yeasts. The strains were cultured in sterile 24-well polystyrene plates and pigment production was measured by Fiji/ImajeJ (GPLv3, NIH, USA) during one week.

**Results:** It was observed that brown pigmented colonies, which can be easily separated from the non-pigmented *C. albicans* yeast colonies, were formed in the grown on KPA medium. Colony pigment formed in KPA medium was less than those formed on Staib agar. *C. albicans* colonies were larger on Staib agar, while *C. neoformans* formed more mucoid colonies on RPA. It was observed that the colony pigment formed in the RPA medium was less than the other in the cultivations on Staib agar and RPA medium. While RPA pigments are higher than WPA's, the yeasts' melanin production in Staib agar have higher data ( $p<0.05$ ). No pigment production has been observed in PDA.

**Conclusion:** Although the pigment production on RPA is less than on Staib agar medium, RPA can be used to demonstrate pigment production of *C. neoformans*. Descriptive media should be prepared with easily accessible inexpensive environmental resources containing phenolic chemicals for the research of pigment production of *C. neoformans*.

**Key Words:** *Cryptococcus neoformans*, red pitahaya agar, white pitahaya agar, medium, pigment measurement

## GİRİŞ

*Cryptococcus* sp. çevrede 30'dan fazla türe sahip bazidiyomiset mantar cinsidir. Bu türlerden *Cryptococcus neoformans* ve *Cryptococcus gattii* insanlarda hayatı tehdit eden ciddi kriptokokkoz tablosu oluşturmaktadır (1). Bu türler doğada toprakta, kanatlı çıkartılarında ve ağaçlarda kolonize olarak çevreden konağa bulaşır (2). *C. neoformans*

çoğunlukla bağışıklığı baskılanmış konakda, nadiren de bağışıklığı yeterli olan konaklarda hastalığa neden olur (1).

Mayanın hücre duvarında biriken melanin, polisakkarit kapsülünden sonra en önemli ikincil virülans faktörüdür (3). Birçok çevresel ve konak stres faktörüne karşı korumada rol alır ve hücre duvarının geçirgenliğini azaltır (4). Enfeksiyon sırasında fagositoza karşı direnç sağlar (5). Kriptokokkal

melanin üretimi, tanımlayıcı olarak kullanılan ve içinde melanin öncüllerini içeren besiyeri ortamında, makroskobik olarak ayırt edilebilen renkli koloniler oluşmasına neden olur. Bu amaçla besiyeri bileşimine Niger tohumu (*Guizotia abyssinica*, Staib agar) özütlerinin karıştırılması yaygın olarak kullanılmaktadır (6). Ayrıca L-3,4-dihidroksifenilalanin içeren besiyeri de ayırtedici olarak tanımlamıştır. Benzer şekilde içinde melanin benzeri maddelerin farklı sentez öncüllerini bulunduran ayçiçeği (Pal besiyeri), patlıcan, muz çiçekleri, kişniş, kimyon, soya fasulyesi, acı bakla, keten, kabak, fesleğen, nane, mercan köşkü ekstraktlarını (özlerini) içeren farklı besiyerleri de vardır (7-11).

Ülkemizde pitaya veya ejder meyvesi olarak bilinen bitki, *Cactaceae* ailesinin *Hylocereus* cinsine aittir. *Hylocereus* türlerinin çoğu Latin Amerika (muhtemelen Meksika ve Kolombiya'dan) kökenlidir (12). Kırmızı pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) ve beyaz pitaya (*Hylocereus undatus*) yenilebilir meyvesi olan türlerdir. Güçlü antioksidan potansiyeli olan polifenoller, flavonoidler ve C vitamini sahiptirler (13). *H. polyrhizus*'a kırmızı rengini veren betasiyaninlerdir (14). Betasiyaninler ısı ile parçalanmakta ve yapılarında dopa içeren bileşikler ortaya çıkmaktadır (15).

Ülkemizde güney sahillerimizde son yıllarda yaygın olarak ticari amaçla üretilmektedir. Sunulan araştırmada, renkli ve renksiz pitaya meyvelerinden yeni tanımlanarak hazırlanan besiyerlerinde *C. neoformans*'ın pigment oluşumunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırmada besiyerleri laboratuvar ortamında her biri ayrı ayrı hazırlandı. Ticari olarak satın alınan kırmızı pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) ve beyaz pitaya (*Hylocereus undatus*) meyvelerinin dış kabuğu (ekzokarp) soyuldu, etli kısım (mezokarp ve endokarp) ezilerek, distile su içinde bir saat kaynatıldı. Pigmentasyon yönünden negatif kontrol için patatesli dekstroz agar (PDA) besiyeri, pozitif kontrol için Staib agar besiyeri standart olarak hazırlandı. Besiyerlerinin bileşenleri Tablo 1'de verilmiştir. Besiyerleri 2X konsantrasyonda (iki kat konsantre) hazırlandı, pH değerleri 6.0'a ayarlandı ve 121°C'da 15 dakika süre ile steril edildi.

Araştırmaya çevresel araştırmalarda izole edilmiş ve moleküler tanımlaması yapılmış 13 *C. neoformans* kökeni alındı (16). Kökenler stoklardan patatesli dekstroz agar besiyerine pasajlandı ve 28°C'da dört gün süre ile inkübe edilerek canlandırıldı. Steril serum fizyolojik içinde McFarland 1.0'a ayarlandı.

Görsel pigment yapımlarının gözlenebilmesi için analize alınan *Cryptococcus neoformans*'ın kökenlerden biri ile çevresel *Candida albicans* kökeni; McFarland 1.0 yoğunluğunda karıştırılarak Staib agar ve kırmızı pitaya agar (KPA) besiyerlerine ekildi. İnkübasyon 28°C'da, altı gün süre izlenerek pigment oluşumu takip edildi.

Mayalardan melanin varlığının ölçülmesinde Brilhante ve ark'nın tanımladığı yöntem kullanıldı (17). Kısaca; otoklav sterilizasyonundan çıkan besiyerleri 50°C'ye kadar soğutulduktan sonra, eşit hacimde

**Tablo 1.** Araştırmada kullanılan besiyerleri

Besiyeri	İçerik
Patatesli dekstroz agar	Patates 75 gr.L <sup>-1</sup> , glikoz 20 gr.L <sup>-1</sup> , agar 15 gr.L <sup>-1</sup>
Beyaz pitaya agar (BPA)	<i>Hylocereus undatus</i> 10 gr.L <sup>-1</sup> , kreatinin gr.L <sup>-1</sup> , KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 1 gr.L <sup>-1</sup> , agar 15 gr.L <sup>-1</sup>
Kırmızı pitaya agar (KPA)	<i>Hylocereus polyrhizus</i> 10 gr.L <sup>-1</sup> , kreatinin gr.L <sup>-1</sup> , KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 1 gr.L <sup>-1</sup> , agar 15 gr.L <sup>-1</sup>
Staib agar	<i>Guizotia abyssinica</i> 50 gr.L <sup>-1</sup> , kreatinin gr.L <sup>-1</sup> , KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 1 gr.L <sup>-1</sup> , glukoz 0.5 gr.L <sup>-1</sup> , agar 15 gr.L <sup>-1</sup>

hazırlanan her bir *C. neoformans* süspansiyonu besiyerleri ile karıştırıldı. Son konsantrasyonu iki kat konsantrasyondan 1:1 yoğunluğa ulaşmış olan maya-besiyeri karışımı 24 kuyucuklu steril polistren plaklara dağıtıldı. Kontrol kuyucukları ise (maya süspansiyonu içermeyen), steril serum fizyolojik ve eşit hacimdeki steril besiyeri ile karıştırılarak oluşturuldu.

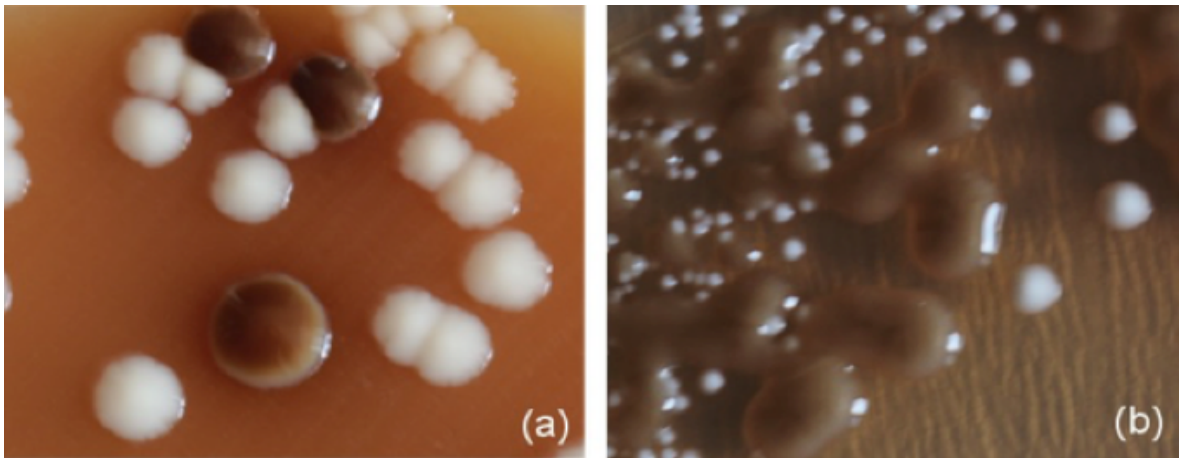
Bir hafta süre ile nemli ortamda ve 28°C'da inkübasyona bırakılan besiyerleri günlük olarak standart floresans ışıklandırma altında Canon EOS 100D ile fotoğraflandı. Fotoğraflama; 25 cm uzaklık, F/8 alan derinliği, 0.5 sn pozlama süresi, ISO hızı 400, açıklık 2.8, odak uzaklığı 32 mm ve 72 dpi çözünürlük ile yapıldı. Analizde beyaz denge ayarı için kadraja kesin siyah ve kesin beyaz yüzeyler eklendi. Fotoğrafların ölçüm amacı ile dönüşümü; Fiji (ImageJ Ver1.53f51 üzerine, Java 1.8.0\_172 tabanlı, GPLv3, <https://imagej.nih.gov/ij/index.html>) ile yapıldı (18). Bilgisayara aktarılan resimlere (her bir plak için ayrı ayrı olmak üzere) sırasıyla; (a) gerekli bölümün kesilmesi; (b) 8 bit dönüşümü, (c) parlaklık ve kontrast standartlaştırması, (d) Beyaz=0, Siyah=255 olmak üzere doğrusal karşılıklı veri dönüşümü uygulaması ve (e) standardize büyüklükte (190 px çap) alandan gri

ölçekte değer ölçümü yapılması işlemleri uygulandı. Elde edilen değerlerden, aynı dönüşümden geçirilen kontrol besiyeri değerleri çıkarılarak ölçüm verileri elde edildi.

Ölçüm verileri Minitab (Ver 18.1, Köln, Almanya) programında istatistik analize alındı. Elde edilen kantitatif (0-255 arası) değerlerin dört grup arasında karşılaştırılmasında Friedman ve gereğinde ikili karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis'in tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Hata payı 0.05 olarak kabul edildi. Her gün yapılan değerlendirmede günlük veriler; analiz günü başına her besiyeri için elde edilen pigment (grilik) değeri (ortalama  $\pm$  standart sapması) olarak kaydedildi.

## BULGULAR

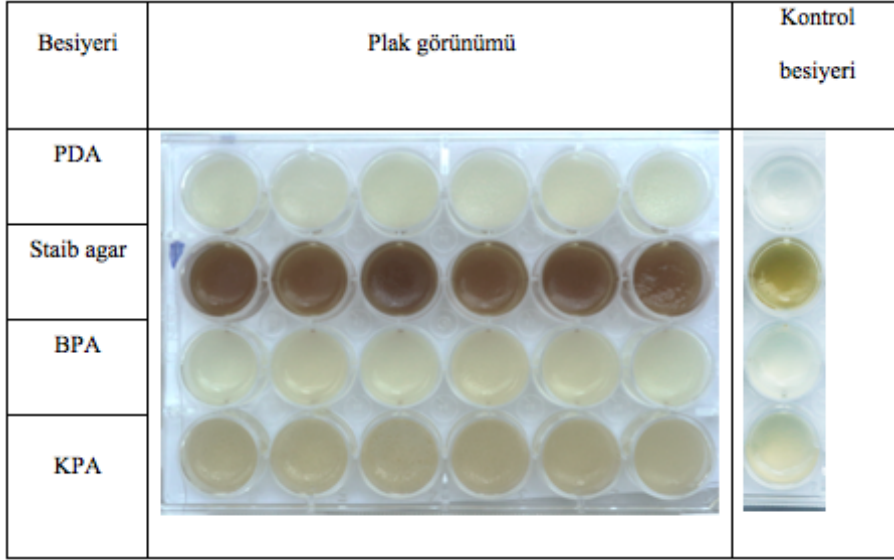
KPA besiyerlerine yapılan ekimlerde göz ile kolaylıkla pigmentless *C. albicans* maya kolonilerinden ayrılabilen kahverengi pigmentli kolonilerin oluştuğu görüldü. Bu pigmentasyon Staib agarda oluşandan daha azdı. Staib agarda *C. albicans* kolonileri daha büyük iken, kırmızı pitaya agarda *C. neoformans* daha mukoid koloniler oluşturmuştur. (Şekil 1).



**Şekil 1.** Staib agar (a) ve kırmızı pitaya agarda (b) pigment oluşturan (*Cryptococcus neoformans*) ve oluşturmayan (*Candida albicans*) kolonileri (6. gün)





























Günlük fotoğraflaması yapılan besiyerleri, her gün kendileri ait maya içermeyen kontrol kuyucuklar ile fotoğraflandı (Şekil 2). Analize alınan 13 *C. neoformans* kökeninin ikisinde; besiyerlerindeki

kuruma nedeni ile 6. ve 7. gün ölçümleri yapılamadı, bu günlere ait seri verileri analiz dışı bırakıldı. Günlük olarak alınan verilere örnek olarak bir maya kökenine ait dönüşüm Tablo 2’de verilmektedir.



Şekil 2. 24 kuyucuklu polistren plaklardan birinin ve aynı güne ait kontrol besiyerlerinin 6. gününe ait doğrudan görünümü  
PDA=Patatesli dekstroz agar; BPA=Beyaz pitaya (*Hyalococcus undatus*) agar; KPA=Kırmızı pitaya (*Hyalococcus polyrhizus*) agar

Tablo 2. Tek kökene ait 8-bit (0-255) gri ölçek dönüşüm örneği

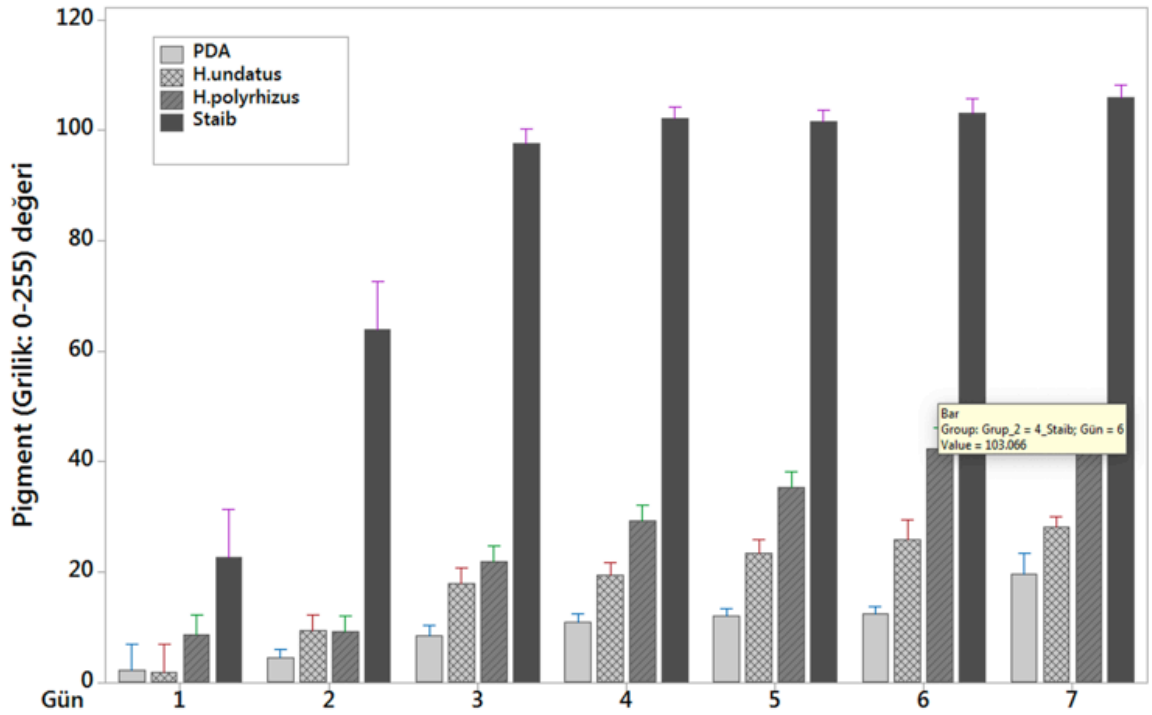
Gün	1	2	3	4	5	6	7
PDA							
Staib agar							
BPA							
KPA							

Veriler kontrol kuyucuk verileri çıkarıldıktan sonra elde edilmiştir.

PDA=Patatesli dekstroz agar; BPA=Beyaz pitaya (*Hyalococcus undatus*) agar; KPA=Kırmızı pitaya (*Hyalococcus polyrhizus*) agar

Analize alınan 13 kökenin melanin üretimi incelendiğinde en yüksek melanin üretimin Staib agar besiyerinde olduğu görüldü. Bir haftalık inkübasyon sonunda, KPA ile elde edilen pigmentasyon beyaz pitaya agar (BPA) besiyerindekinden yüksek iken, Staib agar besiyeri verilerinin yaklaşık %40'ı kadardı.

KPA, BPA'dan daha yoğun pigment oluştururken, Staib agar besiyerinden daha az pigment oluşumuna neden olmaktadır ( $p < 0.05$ ). Negatif kontrol olan PDA besiyerinde ise çok az renk değişimi izlenmiştir ( $p > 0.05$ , Şekil 3).



Şekil 3. İncelemeye alınan besiyerlerinde *Cryptococcus neoformans* kökenlerinin pigment oluşturma ölçümleri

## TARTIŞMA

Mantarlardaki melanin, bağışıklık sistemi ile etkileşir, fagositik hücrelerin etkinliğini azaltır, antifungalleri bağlar, kompleman ve antikor yanıtlarını değiştirir (19). *C. neoformans* L-3,4 dihidroksifenilalanin (L-dopa) yoluyla melanini sentezler. L-dopa veya tirozin bu yolun başlangıç molekülüdür (20). Diğer patojenik mantarlardan

farklı olarak *C. neoformans*, melanini oluşturmak için dışarıdan eklenecek fenolik substratlara ihtiyaç duyar (19). Melanizasyon in vitro katekolamin ve indol bileşiklerinin varlığında, in vivo ise enfeksiyon esnasında meydana gelir (21). Ekzojen difenolik bileşiklerin varlığında *C. neoformans*, lakkaz (*Lac1* ve *Lac2*) kataliziyle kahverengi renkli melanin üretir (22). L-dopa ve dopaminden siyah melanin üretimi olurken, epinefrin, norepinefrin ve kafeik asitten

kahverengi pigment oluşumu meydana gelir (23).

Bitki kaynaklı flavonoidler ve kafeik asit *C. neoformans* tarafından melanin substratı olarak kullanılır (24,25). Bir flavonoid olan betasiyanin kırmızı pitayaya rengini verir. Betasiyanin; betanin, izobetanin, filokaktin ve hiloserenden oluşmaktadır (14). Betasiyaninler ısıtma işlemiyle değişikliğe uğrarlar. Birincil bozunma ürünleri, betaninin bozunmasıyla meydana gelir. Bunlar betalamik asit ve siklo-DOPA-5-O-β-glukozittir. Ayrıca neobetanin de betaninin bozunma ürünüdür ve sarımsı renktedir. Isıtılma işlemiyle filokaktin ve hiloserenden üretilen başka bozunma ürünleri bulunmaktadır. Isıtılma işlemi sonrasında renk sarıya kadar değişebilmektedir (15). Araştırmada kırmızı pitayadan besiyeri elde etmek için gerçekleştirilen suda kaynatma ve sterilizasyon işlemi sonrasında betasiyanin içeriğinde meydana gelen değişiklikler sonucu KPA ten rengini almıştır. BPA ise rengini korumuştur. Tanımlanan BPA ve KPA besiyerlerinin açık renkli olması, *C. neoformans*'ın kahverengi pigmentinin göz ile saptanmasını kolaylaştırmaktadır. KPA'da 48 saat inkübasyon sonrası *C. neoformans* kolonilerinde kahverengi pigment oluşumu görülmüştür (Şekil 1). Beyaz ve kırmızı pitaya; kafeik asit, ferulik asit, C vitamini, K1 vitamini, potasyum ve demir açısından zengin bitkilerdir (26). Yaygın olarak kullanılan Staib agar ve Pal besiyeri kafeik asit içeren besiyerleri arasındadır (6,8). Aynı zamanda büyüme ortamına eklenen 3,4 dihidroksi transsinamik asitin (kafeik asit) *C. neoformans* pigmentasyonunu indüklediği gösterilmiştir (27). Araştırmadaki her iki *Hylocereus* türü de besiyerinde pigment oluşturmuşsa da, KPA'da oluşan pigment daha belirgindir ve renksiz *Candida* kolonilerinden göz ile rahatlıkla ayırım sağlanmaktadır (Şekil 1, 2).

Melanin üreten mantarlarda pigmentasyon ölçümü için farklı yöntemler tanımlanmıştır. Elektron

Spin Rezonans (ESR) Spektrometresi, denatüre edici olmayan poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE), floresan spektroskopisi gibi yöntemler bulunmaktadır (28-30). Araştırmada kullanılan yöntem ise melaninden gri tonlamalı görüntüler elde edilerek yapılan ve yansıyan ışık miktarına dayalı olarak melaninin üretimini ve nicel ölçümünü analiz eden bir yöntemdir (17). Yöntemin uygulanabilirliği kolay ve maliyeti düşüktür. Sunulan araştırmada, günlük alınan verilerin kullanılması, ilk günden yedinci güne kadar PDA, Staib agar, KPA, BPA'daki melanin üretimindeki değişimi değerlendirmemizi olanaklı hale getirmiştir (Tablo 2).

Beyaz pitayanın şeker içeriği yüksek iken, kırmızı pitaya antioksidan potansiyeli yüksek olan fenolik bileşikler açısından üstündür. Toplam fenolik içeriği 100 g başına beyaz pitayada 25 mg, kırmızı pitayada 55 mg gallik asit eşdeğeridir. Flavonoid içeriği ise beyaz pitayada 15 mg, kırmızı pitayada 35 mg arasında değişmektedir (26). Araştırmada pigment ölçümü değerleri besiyerlerine göre değişiklik göstermiştir. KPA, BPA'dan daha yoğun pigment oluştururken, Staib agar besiyerinden daha az pigment oluşturmuştur ( $p<0.05$ ) (Şekil 3). Hipotetik olarak, şeker içeriğinin farklılığı, kırmızı ve beyaz pitayanın fenolik ve flavonoid içeriğinin birbirlerinden farklı olması besiyerlerindeki pigmentasyon miktarını etkilemiş olabilir. Yapılan çalışmalarda farklı besiyerlerinde öncül maddelerin farklı olabileceği gösterilmiştir (10,11). Doğal maddelerin kimyasal içeriklerinin, bitkinin yetiştirme ortamına göre değişkenlik göstermesi, fenolik içerikler gibi maddelerin farklı miktarlarda olmasına neden olmaktadır. Aynı zamanda kafeik asidin kırmızı pitayada fazla olması da etken olabilir (26). KPA besiyerinde kahverengi pigmentasyon görülmüştür. Bu durum L-dopa ve dopaminden siyah melanin üretimi olurken, epinefrin, norepinefrin ve kafeik asitten kahverengi pigment sentezlenmesi ile

uyumludur (23). Melanin üretimi virülans için önemli olmasına rağmen sentezinde yer alan bileşenler ve mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır (21).

Sunulan araştırmanın en önemli kısıtlılığı, KPA ve BPA besiyerlerinin türe ve coğrafyaya bağlı fenolik maddelerinin kimyasal analizlerinin yapılamamasıdır.

Sonuç olarak, KPA besiyerinin Staib besiyerine

göre performansının daha az olduğu tespit edilmesine rağmen, *C. neoformans*'ın pigment oluşumunun gösterilmesinde kullanılabilir. *C. neoformans*'ın pigment yapımının araştırılmasında kullanılan fenolik içerik bulunduran kolaylıkla ulaşılabilir çevresel kaynaklar, ucuz ve basit ayırteci/tanımlayıcı besiyerlerinin yapılması için önemlidir.

## ETİK KURUL ONAYI

\* Bu çalışma, Etik Kurul Onayı gerektirmemektedir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.



## KAYNAKLAR

1. Maziarz EK, Perfect JR. Cryptococcosis. Infect Dis Clin North Am, 2016; 30(1): 179-206.
2. Sorrell TC, Ellis DH. Ecology of *Cryptococcus neoformans*. Rev Iberoam Micol, 1997; 14(2): 42-3.
3. McClelland EE, Bernhardt P, Casadevall A. Estimating the relative contributions of virulence factors for pathogenic microbes. Infect Immun, 2006; 74(3): 1500-4.
4. Momin M, Webb G. The environmental effects on virulence factors and the antifungal susceptibility of *Cryptococcus neoformans*. Int J Mol Sci, 2021; 22(12): 6302.
5. Wang Y, Aisen P, Casadevall A. *Cryptococcus neoformans* melanin and virulence: mechanism of action. Infect Immun, 1995; 63(6): 3131-6.
6. Staib F. *Cryptococcus neoformans* and *Guizotia abyssinica* (syn. *G. oleifera* D.C.) (Farbreaktion für *C. neoformans*). Z Hyg, 1962; 148(5): 466-75.
7. Chaskes S, Tyndall RL. Pigment production by *Cryptococcus neoformans* from para and ortho-diphenols: effect of the nitrogen source. J Clin Microbiol, 1975; 1(6): 509-14.
8. Pal M. First report of isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* from avian excreta in Kathmandu, Nepal. Rev Iberoam Micol, 1997; 14(4): 181-3.
9. Şengül M, Ergin Ç, Kartal T. Çevresel örneklerde *Cryptococcus neoformans* taramaları için patlıcan (*Solanum melongena*) agarın yeni bir besiyeri olarak değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul, 2014; 48(2): 292-9.
10. Khayhan K, Juntaboon S, Fang W, Chaowasku T, Amornthipayawong D, Boekhout T. Banana blossom agar (BABA), a new medium to isolate members of the *Cryptococcus neoformans*/*Cryptococcus gattii* species complex useful for resource limited countries. Mycoses, 2018; 61(12): 959-62.
11. Krema ZA, Mokhtar ES, El Magrahi HS, Eshwika A, Ellabib MS, Cogliati M. Evaluation of novel culture media prepared from plant substrates for isolation and identification of *Cryptococcus neoformans* species complex. Int J Clin Microbiol Biochem Technol, 2018; 1: 009-013.
12. Fournet J. Flore illustrée des phanérogames de Guadeloupe et de Martinique, Tome 1, Famille des Cactaceae, Inra-Cirad-Gondwana, Paris, France, 2002, pp. 224-40.
13. Ruzlan N, Idid SO, Idid SZ, Koya MS, Rehan AM, Kamarudin KR. Antioxidant study of pulps and peels of dragon fruits: A comparative study. International Food Research Journal, 2010; 17(2): 367-75.
14. Yong YY, Dykes G, Lee SM, Choo WS. Comparative study of betacyanin profile and antimicrobial activity of red pitahaya (*Hylocereus polyrhizus*) and red spinach (*Amaranthus dubius*). Plant Foods Hum Nutr, 2017; 72(1): 41-7.
15. Herbach KM, Stintzing FC, Carle R. Thermal degradation of betacyanins in juices from purple pitaya [*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose] monitored by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric analyses. Eur Food Res Technol, 2004; 219: 377-85.
16. Ergin Ç, Şengül M, Aksoy L. *Cryptococcus neoformans* recovered from olive trees (*Olea europaea*) in Turkey reveal allopatry with African and South American lineages. Front Cell Infect Microbiol, 2019;9:384.
17. Brillhante RSN, España JDA, de Alencar LP. An alternative method for the analysis of melanin production in *Cryptococcus neoformans* sensu lato and *Cryptococcus gattii* sensu lato. Mycoses, 2017; 60(10): 697-702.
18. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. Nat Methods, 2012; 9(7): 676-82.

19. Liu S, Youngchim S, Zamith-Miranda D, Nosanchuk JD. Fungal melanin and the mammalian immune system. *J Fungi (Basel)*, 2021; 7(4): 264.
20. Langfelder K, Streibel M, Jahn B, Haase G, Brakhage AA. Biosynthesis of fungal melanins and their importance for human pathogenic fungi. *Fungal Genet Biol*, 2003; 38(2): 143-58.
21. Casadevall A, Rosas AL, Nosanchuk JD. Melanin and virulence in *Cryptococcus neoformans*. *Curr Opin Microbiol*, 2000; 3(4): 354-8.
22. García-Rodas R, Trevijano-Contador N, Román E. Role of Cln1 during melanization of *Cryptococcus neoformans*. *Front Microbiol*, 2015; 6: 798.
23. Brilhante RSN, Rocha MGD, Oliveira JS. *Cryptococcus neoformans/Cryptococcus gattii* species complex melanized by epinephrine: Increased yeast survival after amphotericin B exposure. *Microb Pathog*, 2020; 143: 104123.
24. Fowler ZL, Baron CM, Panepinto JC, Koffas MA. Melanization of flavonoids by fungal and bacterial laccases. *Yeast*, 2011; 28(3): 181-8.
25. Vidotto V, Aoki S, Ponton J, Quindos G, Kogaito CY, Pugliese A. A new caffeic acid minimal synthetic medium for the rapid identification of *Cryptococcus neoformans* isolates. *Rev Iberoam Micol*, 2004; 21(2): 87-9.
26. Arivalagan M, Karunakaran G, Roy TK. Biochemical and nutritional characterization of dragon fruit (*Hylocereus* species). *Food Chem*, 2021; 353: 129426.
27. Strachan AA, Yu RJ, Blank F. Pigment production of *Cryptococcus neoformans* grown with extracts of *Guizotia abyssinica*. *Appl Mikrobiyol*, 1971; 22(3): 478-9.
28. Cunha MML, Franzen AJ, Seabra SH. Melanin in *Fonsecaea pedrosoi*: a trap for oxidative radicals. *BMC Microbiol*, 2010; 10: 80.
29. Pereira CB, Bueno FL, Dias ALT, Brigagão MRPL, Paula CR, Siqueira AM. Evaluation of laccases and melanization in clinical and environmental *Cryptococcus neoformans* samples by non-denaturing PAGE. *J Med Microbiol*, 2009; 58(Pt 5): 563-6.
30. Fernandes B, Matamá T, Guimarães D, Gomes A, Cavaco-paulo A. Fluorescent quantification of melanin. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2016; 29(6): 707-12.

# Karbapenem dirençli *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında *qacE*, *qacEΔ1* ve *cepA* biyosit direnç genlerinin araştırılması

## Investigation of *qacE*, *qacEΔ1* and *cepA* biocide resistance genes in carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates

Harun GÜLBUDAK<sup>1</sup> (ID), Elif EMİROĞLU<sup>2</sup> (ID), Yusuf GÖRGÜLÜ<sup>3</sup> (ID), Seda TEZCAN ÜLGER<sup>1</sup> (ID),  
Nuran DELİALİOĞLU<sup>1</sup> (ID), Gönül ASLAN<sup>1</sup> (ID)

### ÖZET

**Amaç:** *P. aeruginosa* sıklıkla immün sistemi baskılanmış hastalarda sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyona (SHİE) neden olur. SHİE kontrolünde antiseptikler ve dezenfektanlar önemli rol oynamaktadır. Ancak biyositlerin hastanelerde yaygın olarak kullanılması bakterilerde duyarlılığın azalmasına ve dirençli hale gelmesine yol açabilmektedir. Bu çalışmada klinik örneklerden izole edilen karbapenem dirençli *P. aeruginosa* suşlarında biyosit direnci ile ilişkili *qacE*, *qacEΔ1* ve *cepA* gen bölgeleri sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmaya, klinik örneklerden izole edilen, 75 *P. aeruginosa* izolatu (58 karbapenem dirençli, 17 karbapenem duyarlı *P. aeruginosa*) dahil edilmiştir. Konvansiyonel yöntemlerle ve VITEK®2 (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi ile tür identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testleri yapılmıştır. Biyosit direnç gen bölgeleri *qacE*, *qacEΔ1* ve *cepA* PCR yöntemi ile araştırılmıştır.

**Bulgular:** Çalışmada, *qacE* ve *qacEΔ1* genleri sırasıyla

### ABSTRACT

**Objective:** *P. aeruginosa* frequently causes healthcare associated infections (HAI) in immunocompromised patients. Antiseptics and disinfectants play an important role in the control of HAI. However, the widespread use of biocides in hospitals may cause a decrease in biocidal sensitivity and the emergence of resistance in bacteria. In this study, it was aimed to investigate the frequency of *qacE*, *qacEΔ1* and *cepA* gene associated with biocide resistance in carbapenem resistant *P. aeruginosa* strains, isolated from clinical specimens.

**Methods:** In this study, 75 *P. aeruginosa* strains (58 carbapenem resistant and 17 carbapenem sensitive) isolated from clinical samples were included. Species identification and antibiotic susceptibility tests were performed with conventional methods and VITEK®2 (bioMérieux, France) automated system. Biocide resistance gene regions *qacE*, *qacEΔ1* and *cepA* were investigated by PCR method.

**Results:** In the study, *qacE* and *qacEΔ1* genes

<sup>1</sup>Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., Mersin  
<sup>2</sup>İskenderun Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Hatay  
<sup>3</sup>Bandırma Onyedü Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., Balıkesir



İletişim / Corresponding Author : Gönül ASLAN

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD., Çiftlikköy, Mersin - Türkiye  
E-posta / E-mail : drgaslan@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 23.09.2022  
Kabul Tarihi / Accepted : 04.11.2022

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.44538

Gülbudak H, Emiroğlu E, Görgülü Y, Tezcan Ülger S, Delialioğlu N, Aslan G. Karbapenem dirençli *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında *qacE*, *qacEΔ1* ve *cepA* biyosit direnç genlerinin araştırılması. Turk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(3): 277 - 284

%65.3 (n=49) ve %50.7 (n=38) oranında tespit edilmiştir. Ancak *cepA* geni %0 (n=0) oranında pozitif bulunmuştur. Karbapenem dirençli izolatlarda *qacE* %75.8 (n=44) ve *qacEΔ1* %60.3 (n=35) oranında pozitif, karbapenem duyarlı izolatlarda ise *qacE* %29.4 (n=5) ve *qacEΔ1* %17.6 (n=3) oranında pozitif bulunmuştur. Karbapenem dirençli izolatlarda *qacE* ve *qacEΔ1* genlerinin sıklığı duyarlı olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

**Sonuç:** Bu çalışmada, karbapenem dirençli *P. aeruginosa* izolatlarında *qacE* ve *qacEΔ1* gen sıklığı oldukça yüksek bulunmuştur. Direnç genlerinin yüksek oranda bulunması bu izolatlarda potansiyel biyosit direnci olabileceğini göstermektedir. Özellikle karbapenem direncinin yüksek olduğu durumlarda *P. aeruginosa*'nın biyositlere de dirençli olabileceğinin akılda tutulması yayılımın önlenmesinde ve salgınların kontrolünde önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** *P. aeruginosa*, *qacE*, *qacEΔ1*, *cepA*, biyosit

were determined in 65.3% (n=49) and 50.7% (n=38), respectively. However, *cepA* gene was found negative in all isolates. *qacE* and *qacEΔ1* genes were found positive 75.8% (n=44) and 60.3% (n=35) in carbapenem resistant isolates, while 29.4% (n=5) and 17.6% (n=3) were found positive in carbapenem susceptible isolates. The frequency of *qacE* and *qacEΔ1* genes in carbapenem resistant isolates was found to be significantly higher than in susceptible ones ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** In this study, biocide resistance genes *qacE* and *qacEΔ1* frequencies were found to be quite high in carbapenem resistant *P. aeruginosa* isolates. The high prevalence of resistance genes suggests that these isolates may have potential biocide resistance. Especially in cases where carbapenem resistance is high, keeping in mind that *P. aeruginosa* may also be resistant to biocides, is important in preventing spread and controlling outbreaks.

**Key Words:** *P. aeruginosa*, *qacE*, *qacEΔ1*, *cepA*, biocides

## GİRİŞ

*Pseudomonas aeruginosa* doğada yaygın olarak bulunan ve fırsatçı enfeksiyonlara neden olan, Gram negatif non-fermentatif bir bakteridir (1). *P. aeruginosa* sıklıkla immün sistemi baskılanmış hastalarda sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyon (SHİE)'a neden olur (1,2). Bakterinin nemli ortamlarda uzun süre canlı kalabilmesi, hastane ortamında ve tıbbi cihazlarda üreyebilmesi, antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesi bakteriyi önemli bir problem haline getirmektedir (1,2). SHİE kontrolünde antiseptikler ve dezenfektanlar önemli rol oynamaktadır. Ancak biyositlerin hastanelerde yaygın olarak kullanılması

bakterilerde duyarlılığın azalmasına ve dirençli hale gelmesine yol açabilmektedir (3,4).

Bakterilerde antiseptik direnç mekanizmalarından birisi kuaterner amonyum bileşikleri (quaternary ammonium compounds; *qac*) gen bölgesi ile eksprese edilen dışa atım pompasıdır (4,5). Klinik ve çevresel bakterilerde çeşitli *qac* genleri tanımlanmıştır ve bu genlerin dağılımı genellikle bakteri türleri ile ilişkilidir (5). Gram pozitif bakterilerde özellikle *Staphylococcus* türlerinde, *qacA*, *qacB* ve *qacC/smr* genleri sık görülürken *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. ve *Acinetobacter* spp. gibi Gram negatif bakterilerde *qacE* ve varyantı *qacEΔ1* yaygın görülür (6-9). *Qac* proteinleri, ana substratlarından

birinin adını almasına rağmen aktivite spektrumu çok daha geniştir ve farklı kimyasal sınıflara ait 30'dan fazla lipofilik monovalan (benzalkonyum, setrimid, vd.) ve divalant (klorheksidin, heksamidin, propamidin, vd.) katyonik bileşiğe direnç geliştirebilir (5,10). *cepA* Gram negatif bakterilerde klorheksidin direnci ile ilişkili bir diğer dışa atım pompası kodlayan genidir ve son dönemde *P. aeruginosa* izolatların da yüksek oranda bildirilmiştir (11-14). Bu çalışmada klinik örneklerden izole edilen karbapenem dirençli *P. aeruginosa* suşlarında biyosit direnci ile ilişkili *qacE*, *qacED1* ve *cepA* gen bölgeleri sıklığının araştırılması ve karbapenem dirençli ve duyarlı izolatlarda biyosit direnç geni dağılımının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, bir üniversite hastanesinde klinik örneklerden izole edilen, 75 *P. aeruginosa* izolatı (58 karbapenem dirençli, 17 karbapenem duyarlı *P. aeruginosa*) dahil edildi. Tekrarlayan hasta örnekleri çalışma dışı bırakıldı.

Klinik örnekler; %5 kanlı agar, çikolata agar ve EMB agara ekilerek 37°C'de 24 saat inkübe edildi ve üreyen kolonilerden konvansiyonel yöntemlerle (koloni morfolojisi, oksidaz aktivitesi, pigment oluşumu, özgül aromatik koku ve kanlı agarda hemoliz oluşturma) *Pseudomonas* spp. olarak tanımlanan izolatlara VITEK®2 (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi ile tür identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testleri yapıldı.

DNA izolasyonu %5 kanlı agarda üreyen bakteri kolonilerine hızlı DNA ekstraksiyon prosedürü uygulandı (15). Buna göre bir öze dolusu bakteri 1 ml steril distile su ile süspanse edildi ve 80°C'de 20 dakika bekletilerek, hücrelerin parçalanması sağlandı. Daha sonra 12.000xg'de 10 dakika santrifüj edilerek üstte kalan sıvı atıldı. Pellet üzerine 200 µl kloroform ve 200 µl steril distile su ilavesiyle elde edilen karışım 12.000xg'de 10 dakika tekrar santrifüj edildi. Bu kez üstte kalan sıvı PCR reaksiyonu için kalıp olarak kullanıldı.

Çalışmada *qacE*, *qacED1*, *cepA* gen bölgelerini hedefleyen PCR yöntemi uygulandı. PCR reaksiyonları için; *qacE* (F:5'-GCG AAG TAA TCG CAA CAT CC-3' ve R: 5'-GCC CCA TAC CTA CAA AGC C-3'), *qacED1* (F:5'-TAG CGA GGG CTT TAC TAA GC-3' ve R:5'-ATT CAG AAT GCC GAA CAC CG-3') ve *cepA* (F:5'-CAA CTC CTT CGC CTA TCC CG-3' ve R:5'-TCA GGT CAG ACC AAA CGG CG-3') primerleri kullanıldı (9,11,16).

Çalışmada *qacE* gen bölgesi PCR amplifikasyonu her bir örnek için 25 µl'lik reaksiyon hacminde gerçekleştirildi. PCR reaksiyon karışımı; 2.5 µl 10XPCR tamponu, 2.5 µl MgCl<sub>2</sub> (25 mM stok), 0.5 µl dNTP miks (10 mM stok), 0.25 µl her primerden (100 µM stok), 0.15 µl Taq DNA polimeraz (5 U/µl stok), 2.5 µl kalıp DNA örneği ve son hacmi 25 µl'ye tamamlayacak miktarda steril distile su eklenerek hazırlandı. Örneklerin amplifikasyon koşulları; 94°C'de 5 dakika başlangıç denatürasyonu, 35 siklus 94°C'de 45 saniye denatürasyon, 57°C'de 45 saniye bağlanma, 72°C'de bir dakika uzama basamağı ve arkasından 72°C'de 8 dakika son uzama basamağı olacak şekilde uygulandı. *qacED1* ve *cepA* gen bölgesi PCR reaksiyonları için de primer bağlanma sıcaklığı hariç (*qacED1* için 57°C, *cepA* için 60°C) aynı termal döngü koşulları kullanıldı. Amplifikasyon ürünleri, 0.5 µg/ml etidyum bromür içeren %1'lik agaroz jelde 120 voltta 40 dakika elektroforeze tabi tutulduktan sonra ultraviyole ışık altında görüntülendi. Elektroforez sonucu *qacE*, *qacED1* ve *cepA* PCR ürünlerinden sırasıyla 228, 300, 1058 baz çifti (bp) uzunluğunda bant elde edilen örnekler pozitif olarak değerlendirildi (9,11,16).

Verilerin özetlenmesinde, kategorik yapıda olan değişkenler sayı ve yüzde olarak verilmiştir. Kategorik değişkenlerin analizinde Ki-kare testinden yararlanılmıştır. Analizler Statistica v.13.3.1 programı ile yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak kabul edilmiştir.

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 23.06.2021, Karar no: 457).

## BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 75 *P. aeruginosa* izolatının %28.0 (n=21)'i trakeal aspirat, %21.3 (n=16)'ü idrar, %18.7 (n=14)'si yara, %9.4 (n=7)'ü balgam, %8 (n=6)'i doku, %5.3 (n=4)'ü kan, %4 (n=3)'ü kateter ve %5.3 (n=4)'ü diğer klinik örneklerden (diren, safra, abse, boğaz sürüntüsü) izole edilmiştir (Tablo 1). İzolatların %44.0 (n=33)'ü servislerden, %42.7 (n=32)'si yoğun bakım ünitelerinden ve %13.3 (n=10)'ü polikliniklerden gönderilen örneklerden

elde edilmiştir (Tablo 2).

Çalışmadaki 75 *P. aeruginosa* izolatının %65.3 (n=49)'inde *qacE* ve %50.7 (n=38)'inde *qacEΔ1* geni pozitif bulunurken *cepA* geni %0.0 (n=0) oranında pozitif saptanmıştır. Karbapenem dirençli 58 izolatın %75.8 (n=44)'inde *qacE*, %60.3 (n=35)'ünde *qacEΔ1* geni pozitif; karbapenem duyarlı 17 izolatın ise %29.4 (n=5)'ünde *qacE* ve %17.6 (n=3)'sında *qacEΔ1* geni pozitif olarak belirlenmiştir. Karbapenem dirençli suşlarda *qacE* ve *qacEΔ1* gen sıklığı anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ) (Tablo 3).

Tablo 1. *P. aeruginosa* izolatlarında *qacE* ve *qacEΔ1* genlerinin klinik örneklerle göre dağılımı

Klinik örnekler	Örnek sayısı n=75 (%)	<i>qacE</i> pozitif n=49 (%)	<i>qacEΔ1</i> pozitif n=38 (%)
Trakeal aspirat	21 (28.0)	12(24.5)	9 (23.7)
İdrar	16 (21.3)	10 (20.4)	10 (26.3)
Yara	14 (18.7)	9 (18.4)	6 (15.8)
Balgam	7 (9.4)	5 (10.2)	4 (10.5)
Doku	6 (8.0)	5 (10.2)	4 (10.5)
Kan	4 (5.3)	3 (6.1)	1 (2.6)
Kateter	3 (4.0)	2 (4.1)	2 (5.3)
Diğer	4 (5.3)	3 (6.1)	2 (5.3)

Tablo 2. *P. aeruginosa* izolatlarında *qacE* ve *qacEΔ1* genlerinin kliniklere göre dağılımı

Klinikler	Örnek sayısı n=75 (%)	<i>qacE</i> pozitif n=49(%)	<i>qacEΔ1</i> pozitif n=38 (%)
Servis	33 (44.0)	23 (46.9)	14 (36.8)
Yoğun Bakım Ünitesi	32 (42.7)	21 (42.9)	19 (50.0)
Poliklinik	10 (13.3)	5 (10.2)	5 (13.2)

Tablo 3. *P. aeruginosa* izolatlarında *qacE* ve *qacEΔ1* gen bölgeleri dağılımı

Gen bölgesi		Karbapenem dirençli n=58 (%)	Karbapenem duyarlı n=17 (%)	<i>p</i> değeri
<i>qacE</i>	Pozitif	44 (76.0)	5 (29.0)	0.0004
	Negatif	14 (24.0)	12 (71.0)	
<i>qacEΔ1</i>	Pozitif	35 (60.0)	3 (18.0)	0.0019
	Negatif	23 (40.0)	14 (82.0)	

## TARTIŞMA

Biyositlerin hastanelerde, endüstride ve evlerde antiseptik, dezenfektan ve koruyucu olarak yaygın bir şekilde kullanılması enfeksiyon zincirinin kırılmasında önemli rol oynamaktadır (10). Ancak, bakterilerde biyositlere karşı duyarlılığın azalması ve tolerans/ direnç gelişmesi endişe verici bir durumdur (4,10). Biyositlerin etkisi; konsantrasyon oranı, temas süresi, pH, sıcaklık, mikroorganizma türü ve sayısı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (17). Normal şartlarda etkili olan biyositlerin yaygın kullanımına bağlı olarak, bakteri popülasyonlarının çevrede biriken düşük konsantrasyonda, letal olmayan dozlardaki biyositlere maruz kalması, bakterilerin biyositlere tolerans ve direnç geliştirmesine neden olmaktadır (10,18). Bakterilerde biyosit direnci genetik mutasyonlarla ya da direnç genlerinin plazmit aracılığıyla aktarılması sonucu kazanılır. *P. aeruginosa* ve diğer bakterilerde biyosit direnç mekanizmalarından birisi küçük çoklu ilaç direnci (small multidrug resistance; SMR) protein ailesinden olan dışa atım pompalarıdır. Biyosit direnç genleri *qacE* ve *qacED1* kuaterner amonyum bileşiklerine direnç kazandıran geniş spektrumlu dışa atım pompalarını kodlar (4,5). Bu çalışmada klinik *P. aeruginosa* izolatlarında *qacE* ve *qacED1* direnç genleri araştırılmıştır ve %65.3 oranında *qacE* geni, %50.7 oranında *qacED1* geni tespit edilmiştir.

Farklı ülkelerden yapılan çalışmalara baktığımızda *P. aeruginosa* izolatlarında *qacE* geni; Avustralya'dan %100, İran'dan %1.1-59, Rusya'dan %22.2, Suudi Arabistan'dan %18.2, Mısır'dan %13.4 ve Almanya'dan %2.7 oranında bildirilmiştir (7,13,14,19-22). *qacED1* geni ise; İran'dan %36.9-91.5, Çin'den %64.4, Brezilya'dan %48, Mısır'dan %48, Avustralya'dan %46.2, Rusya'dan %18.5 ve Almanya'dan %13.5 oranında bildirilmiştir (7,13,14,16,19,21-23).

*cepA* geni, *Klebsiella pneumoniae* ve diğer Gram negatif bakterilerde klorheksidin direnci ile ilişkili dışa atım pompası kodlayan genidir (11). Son dönemde *P. aeruginosa* izolatları ile yapılan çalışmalarda Namaki ve ark. %81.5, Goodarzi ve

ark. %60.9 ve Kosyakova ve ark. %14.8 oranında *cepA* geni pozitifliği bildirmişlerdir (12,13,14). Bu çalışmalardan farklı olarak bizim çalışmamızda *cepA* geni tespit edilmemiştir. Benzer şekilde Gomaa ve ark. *Acinetobacter baumannii* izolatlarında *cepA* genini örneklerin tamamında negatif bulmuşlardır (24).

Çalışmamızda *qacE* geni nispeten yüksek oranda bulunurken, *qacED1* geni diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Ancak yaygın kullanılan biyositlerin MİK değerleri test edilmediği için direnç genlerinin fenotipik olarak biyosit direncine etkisi gösterilememiştir. Farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda, *cepA* ve *qac* genlerinin dağılımı farklı oranlarda bulunmuş ve biyosit duyarlılığındaki rolüne ilişkin farklı sonuçlar bildirilmiştir. Gram negatif bakterilerle yapılan bir çalışmada, biyositlerin (benzalkonyum klorür, setiltrimetilamonyum bromür ve etidyum bromür) MİK konsantrasyonları ile *qacED1/qacE* genlerinin anlamlı bir ilişki göstermediği bulunmuştur (22). Başka bir çalışmada, *P. aeruginosa* izolatlarında *qacED1* geni biyosit duyarlı izolatlarda %70; duyarlılığı azalmış izolatlarda %90 oranında bulunmuş ve biyosit duyarlılığında görülen azalmanın *qacED1* geninden bağımsız olduğu sonucuna varılmıştır (23). Farklı olarak son dönemde yapılan çalışmalarda; Namaki ve ark. *P. aeruginosa* izolatlarında biyosit direnç geni olan izolatların daha yüksek MİK değerine sahip olduğunu; Goodarzi ve ark. çok ilaca dirençli *P. aeruginosa* izolatlarının biyosit (klorheksidin glukonat, benzalkonyum klorit, vd) duyarlılığında görülen azalmaların direnç genleri ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (12,13). Benzer şekilde karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* ile yapılan bir çalışmada, biyosit direnç geni taşıyan izolatların dezenfektanlara karşı daha yüksek toleransa sahip olduğu tespit edilmiştir (25).

Gram negatif bakterilerde antibiyotik direncinin klorheksidin direnci ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (26). Biyositlere direnç geliştiren bakterilerde antibiyotik direncinin de artış gösterdiği tespit edilmiştir (10,27). Ayrıca, biyositlerin



aynı ortamda uzun süre kullanılması bakteri profilini değiştirmektedir (17). Antibiyotiklerin ve antiseptiklerin hastanede yaygın kullanılması, hastanedeki bakteri profilini etkileyerek dirençli bakterilerin seçilmesine neden olur. Çalışmamızda, *qacE* ve *qacED1* direnç genleri karbapenem dirençli izolatlarda karbapenem duyarlı izolatlardan istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ) (Tablo 1). Ayrıca *qacE* geninin %89.8'i ve *qacED1* geninin %86.8'i servis ve yoğun bakım ünitesinde yatan hasta örneklerinden tespit edilmiştir (Tablo 3). Romão ve ark. *qacED1* genini biyosit direnci ile ilişkisiz bulmalarına rağmen; çoklu antibiyotik direnci ile iyi korelasyon gösterdiğini tespit etmişlerdir (23). Ancak başka bir çalışmada, çoklu antibiyotik direnci olan Gram negatif bakterilerin, *qacE* veya *qacED1* geni olsa bile, kuaterner amonyum bileşiklerine antibiyotiğe duyarlı olan bakterilerden daha dirençli olmadığı bildirilmiştir (22). Benzer şekilde Namaki ve ark. antibiyotik direnci ile biyosit direnç genleri arasında anlamlı bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir

(12). Çalışmalardaki farklı sonuçlar, çalışma popülasyonlarındaki farklılıklar, çalışılan bakteriler, örnek genişliğindeki farklılıklar, biyositler ve direnç genleri gibi değişkenlerden kaynaklanabilir. Ancak, elde ettiğimiz bulgular ve çalışmaların sonuçları bakterilerde biyosit direnç genlerinin tespit edilmesi her zaman fenotipik olarak biyosit direnci olduğunu göstermez ancak potansiyel olarak biyositlere dirençli olabileceğini düşündürür.

Sonuç olarak bu çalışmada, klinik *P. aeruginosa* izolatlarının biyosit direnç genleriyle ilgili epidemiyolojik veri elde edilmiştir. Karbapenem dirençli izolatlarda *qacE* ve *qacED1* gen sıklığı oldukça yüksek bulunmuştur. Direnç genlerinin yüksek bulunması bu izolatlarda potansiyel biyosit direnci olabileceğini göstermektedir. Özellikle karbapenem direncinin yüksek olduğu durumlarda *P. aeruginosa*'nın biyositlere de dirençli olabileceğinin akılda tutulması yayılımın önlenmesinde ve salgınlara kontrolünde önemlidir.

## ETİK KURUL ONAYI

\* Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 23.06.2021, Karar no: 457)

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. Clin Microbiol Rev, 2009;22(4):582-610.
2. Rossolini GM, Mantengoli E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Microbiol Infect, 2005;11 Suppl 4:17-32.
3. Milstone AM, Passaretti CL, Perl TM. Chlorhexidine: expanding the armamentarium for infection control and prevention. Clin Infect Dis, 2008;46(2):274-81.
4. Kampf G. Acquired resistance to chlorhexidine - is it time to establish an 'antiseptic stewardship' initiative? J Hosp Infect, 2016;94(3):213-27.
5. Jaglic Z, Cervinkova D. Genetic basis of resistance to quaternary ammonium compounds - the qac genes and their role: a review. Veterinarni Medicina, 2012;57(6): 275-81.
6. Wassenaar TM, Ussery D, Nielsen LN, Ingmer H. Review and phylogenetic analysis of qac genes that reduce susceptibility to quaternary ammonium compounds in *Staphylococcus* species. Eur J Microbiol Immunol (Bp), 2015;5(1):44-61.
7. Mahzounieh M, Khoshnood S, Ebrahimi A, Habibian S, Yaghoubian M. Detection of Antiseptic-Resistance Genes in *Pseudomonas* and *Acinetobacter* spp. Isolated From Burn Patients. Jundishapur J Nat Pharm Prod, 2014;9(2):e15402.
8. Kazama H, Hamashima H, Sasatsu M, Arai T. Distribution of the antiseptic-resistance genes qacE and qacE delta 1 in gram-negative bacteria. FEMS Microbiol Lett, 1998;159(2):173-8.
9. Babaei M, Sulong A, Hamat R, Nordin S, Neela V. Extremely high prevalence of antiseptic resistant Quaternary Ammonium Compound E gene among clinical isolates of multiple drug resistant *Acinetobacter baumannii* in Malaysia. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2015;14:11.
10. Jennings MC, Minbiole KP, Wuest WM. Quaternary ammonium compounds: An antimicrobial mainstay and platform for innovation to address bacterial resistance. ACS Infect Dis, 2015;1(7):288-303.
11. Fang CT, Chen HC, Chuang YP, Chang SC, Wang JT. Cloning of a cation efflux pump gene associated with chlorhexidine resistance in *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother, 2002;46(6):2024-8.
12. Namaki M, Habibzadeh S, Vaez H, Arzanlou M, Safarirad S, Bazghandi SA, et al. Prevalence of resistance genes to biocides in antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. Mol Biol Rep, 2022;49(3):2149-55.
13. Goodarzi R, Yousefimashouf R, Taheri M, Nouri F, Asghari B. Susceptibility to biocides and the prevalence of biocides resistance genes in clinical multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Hamadan, Iran. Mol Biol Rep, 2021;48(6):5275-81.
14. Kosyakova KG, Esaulenko NB, Kameneva OA, Kazakov SP, Dubinina AY, Mezina EY, et al. Prevalence of carbapenemase genes, qacE, qacED1 and cepA in multidrug-resistant gram-negative bacteria with different susceptibility to chlorhexidine. Epidemiol Vacc Prevent, 2020; 19 (5): 49-60.
15. Sajduda A, Brzostek A, Poplawska M, Augustynowicz-Kopec E, Zwolska Z, Niemann S, et al. Molecular characterization of rifampin- and isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Poland. J Clin Microbiol, 2004;42(6):2425-31.
16. Wang C, Cai P, Guo Y, Mi Z. Distribution of the antiseptic-resistance genes qacEDelta1 in 331 clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in China. J Hosp Infect, 2007;66(1):93-5.
17. Russell AD. Biocide use and antibiotic resistance: the relevance of laboratory findings to clinical and environmental situations. Lancet Infect Dis, 2003;3(12):794-803.

18. Thomas L, Maillard JY, Lambert RJ, Russell AD. Development of resistance to chlorhexidine diacetate in *Pseudomonas aeruginosa* and the effect of a “residual” concentration. *J Hosp Infect*, 2000;46(4):297-303.
19. Subedi D, Vijay AK, Willcox M. Study of disinfectant resistance genes in ocular isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics (Basel)*, 2018;7(4):88.
20. Vijayakumar R, Sandle T, Al-Aboody MS, AlFonaisan MK, Alturaiki W, Mickymaray S, et al. Distribution of biocide resistant genes and biocides susceptibility in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* - A first report from the Kingdom of Saudi Arabia. *J Infect Public Health*, 2018;11(6):812-6.
21. Helal ZH, Khan MI. QacE and QacEΔ1 Genes and their correlation to antibiotics and biocides resistance *Pseudomonas aeruginosa*. *Am J Biomed Sci*, 2015;7(2):52-62.
22. Kücken D, Feucht HH, Kaulfers PM. Association of qacE and qacEΔ1 with multiple resistance to antibiotics and antiseptics in clinical isolates of gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol Lett*, 2000;183(1):95-8.
23. Romão C, Miranda CA, Silva J, Mandetta Clementino M, de Filippis I, Asensi M. Presence of qacEΔ1 gene and susceptibility to a hospital biocide in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* resistant to antibiotics. *Curr Microbiol*, 2011;63(1):16-21.
24. Gomaa FAM, Helal ZH, Khan MI. High prevalence of blaNDM-1, blaVIM, qacE, and qacEΔ1 genes and their association with decreased susceptibility to antibiotics and common hospital biocides in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Microorganisms*, 2017;5(2):18.
25. Guo W, Shan K, Xu B, Li J. Determining the resistance of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* to common disinfectants and elucidating the underlying resistance mechanisms. *Pathog Glob Health*, 2015;109(4):184-92.
26. Kõljalg S, Naaber P, Mikelsaar M. Antibiotic resistance as an indicator of bacterial chlorhexidine susceptibility. *J Hosp Infect*, 2002;51(2):106-13.
27. Capita R, Riesco-Peláez F, Alonso-Hernando A, Alonso-Calleja C. Exposure of *Escherichia coli* ATCC 12806 to sublethal concentrations of food-grade biocides influences its ability to form biofilm, resistance to antimicrobials, and ultrastructure. *Appl Environ Microbiol*, 2014;80(4):1268-80.

# Determination of diversity of actinomycete in forest soil subject to different blood groups; Classical approaches before metagenomic

## Farklı kan gruplarına bağlı orman topraklarında aktinomiset çeşitliliğinin belirlenmesi; Metagenomik öncesi klasik yaklaşımlar

Fatma Şeyma GÖKDEMİR<sup>1</sup> (ID), Mazlum DOĞAN<sup>2</sup> (ID), Gönül ARSLAN AKVERAN<sup>3</sup> (ID), Sabiha ŞENGÖZ<sup>4</sup> (ID), Djursun KARASARTOVA<sup>5</sup> (ID), Ayşegül TAYLAN ÖZKAN<sup>6</sup> (ID)

### ABSTRACT

**Objective:** Forensic microbiology is the developing field of forensic science. Forensic microbiologist can use trace evidence to match people to crime scenes, to investigate bioterrorism incidents, and to determine cause and time of death. In recent years, important studies on the environmental microbiota have been carried out. These studies can be associated with many legally valuable data as well as being related to the microbiota of environmental events. Actinobacteria are gram-positive micelle bacteria with enormous diversity, common in soil, and have high economic value. So far 47 families and 711 species of Actinobacteria were isolated and identified in variety of habitats. Increasing forensic studies in recent years show that microbial profiles can be used as evidence.

**Methods:** In this study, actinobacteria were isolated from forest soil samples exposed to eight different blood groups for two weeks and control group. Genomic DNA isolation from colonies selected by considering

### ÖZET

**Amaç:** Adli mikrobiyoloji, adli bilimin gelişen alanıdır. Adli mikrobiyolog, insanları suç mahalli ile eşleştirmek, biyoterörizm olaylarını araştırmak ve ölüm nedenini ve zamanını belirlemek için iz kanıtları kullanabilir. Son yıllarda çevresel mikrobiyotaya ile ilgili önemli çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalar, çevresel olayların mikrobiyotası ile ilgili olabileceği gibi, yasal olarak değerli birçok veri ile ilişkilendirilebilir. Aktinobakteriler, toprakta yaygın olarak bulunan ve ekonomik değeri yüksek, muazzam çeşitliliğe sahip gram pozitif miselli bakterilerdir. Şimdiye kadar çeşitli habitatlarda 47 familya ve 711 Actinobacteria türü izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Son yıllarda artan adli tıp çalışmaları mikrobiyal profillerin kanıt olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

**Yöntem:** Bu çalışmada, sekiz farklı kan grubuna iki hafta süreyle maruz bırakılan orman toprağı örneklerinden ve kontrol grubundan Aktinobakteriler izole edilmiştir. Karşılaştırmalı koloni morfolojisi dikkate

<sup>1</sup>Michigan State University, Plant, Soil And Microbial Science, East Lansing/Michigan, USA

<sup>2</sup>Hittit University, Institute of Graduate Programs, Department of Forensic Sciences, Çorum

<sup>3</sup>Hittit University, Alaca Avni Celik Vocational School, Department of Food Processing, Çorum

<sup>4</sup>Hittit University, Faculty of Health Science, Department of Nutrition and Dietetics, Çorum

<sup>5</sup>Hittit University, Department of Medical Microbiology, Çorum

<sup>6</sup>TOBB University of Economics and Technology, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Fatma Şeyma GÖKDEMİR

48823- East Lansing - United States of America

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

Geliş Tarihi / Received : 21.09.2022

Kabul Tarihi / Accepted : 10.11.2022

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.76753

Gökdemir FŞ, Doğan M, Arslan Akveran G, Şengöz S, Karasartova D, Taylan Özkan A. Determination of diversity of actinomycete in forest soil subject to different blood groups; Classical approaches before metagenomic. Turk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(3): 285 - 308

comparative colony morphology, PCR amplification targetted 16S rRNA and sequence analysis were carried.

**Results:** A total of five Actinobacteria type bacteria (three *Micromonospora* sp., one is *Streptomyces* sp., and one *Actinomadura* sp.) were obtained from the soil samples mixed with the B Rh (+) blood group in the 7th day. No Actinobacteria growth was observed neither in the control group nor in the soils to which other blood groups were added. According to the *p-distance* values of all isolates, they were determined as subspecies rather than a new species.

**Conclusion:** This is a preliminary study to identify bacterial communities that may be present and differ in soil exposed to blood. The inability to isolate Actinobacteria from most of the soil samples may be due to the chemical or enzymatical properties of the bloods that can degrade the bacterial spores. In the further studies, different media and genomic techniques should be tried in different types of soils.

**Key Words:** Actinomycete, forensic microbiology, soil microbiome

alınarak seçilen kolonilerden genomik DNA izolasyonu, 16S rRNA hedefli PCR amplifikasyonu ve dizi analizi gerçekleştirilmiştir.

**Bulgular:** 7. günde B Rh (+) kan grubu ile karıştırılan toprak örneklerinden toplam beş Actinobacteria türü bakteri (üç *Micromonospora* sp., bir *Streptomyces* sp. ve bir *Actinomadura* sp.) elde edildi. Ne kontrol grubunda ne de diğer kan gruplarının eklendiği topraklarda Actinobacteria üremesi gözlenmedi. Tüm izolatların *p-distance* değerlerine göre yeni bir tür olmadığı ancak var olan türlere ait alt tür oldukları belirlenmiştir.

**Sonuç:** Bu çalışma, kana maruz kalan toprakta bulunabilecek ve farklılık gösterebilecek bakteri topluluklarını belirlemeye yönelik bir ön çalışmadır. Aktinobakterilerin toprak örneklerinin çoğundan izole edilememesi, bakteri sporlarını bozabilen kanların kimyasal veya enzimatik özelliklerinden kaynaklanabilir. Bundan sonraki çalışmalarda, farklı toprak türlerinde farklı ortam ve genomik teknikler denenmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** Actinomycete, adli mikrobiyoloji, toprak mikrobiyomu

## INTRODUCTION

Microorganisms are abundant in and on the human body. It is estimated that microbial cells outnumber the total number of human somatic cells in crime-related environments and on objects (1,2). On the other hand, using microbiology in forensic science is quite new (3). In the early 1990s, amplified viral DNA sequencing was used to support a case from a dentist in Florida, United States, who claimed that several patients were infected with Human Immunodeficiency (HIV) Virus (4).

Forensic microbiology could be used for several purposes such as geolocation and surface analysis, identification, biological sex determination, trace proof, type and cause of death and (thanatomicrobiome) postmortem (5). Increasingly

widespread forensic studies show that relevant microbial profiles can be used as evidence or complement traditional research methods at least (6, 7). Although using of microbial profiles as evidence via advanced computational tools, bioinformatics, processing tools and traditional protocols, innovative approaches are needed in this emerging field (5).

In recent years, the analysis of soil microbial communities has been considered potentially useful in forensics because of its ability to discriminate at fine-scale resolution. Since the structure of the microbial community has been determined by various factors such as soil type, seasonal variation, site management, vegetation, and environmental conditions; bacterial and fungal communities in a particular region have a highly specific profile (8). Recent advances in Mass Parallel Sequencing (MPS)

can exhibit more comprehensive view of the microbial communities in a soil sample, via generating thousands of sequences reads per sample. It is possible to gain to 8.3 million unique sequences from one gram of soil depending on the type of the ground (9).

Actinomycetes are gram-positive bacteria commonly founding in many ecosystems, primarily soil. Although the diversity of Actinomycetes in the soil habitat varies according to the location, organic substances in the soil, soil cultivation and climatic factors, some researchers have stated that it is mostly found in dry alkaline soil (10).

Forensic microbiologists can use trace evidence to match people to crime scenes, to investigate incidents of bioterrorism, and to determine cause and time of death. There are different methods for studies on biodiversity determination from a soil ecosystem such as the use of metabarcoding technologies and *in vitro* bacterial biodiversity determination methods. It is thought that this phylogenetic study can be an important reference in interpreting the event in the crime scene investigation or biodiversity determination of a possible blood-exposed region in the future.

In this preliminary study for the phylogenetic evaluation of forensic sciences, bacterial isolation using selective media and phylogenetic analyses

based on 16S rRNA gene region were performed and the effect of different blood groups on Actinomycete biodiversity in the soil ecosystem was examined.

## MATERIAL and METHOD

### Field Studies

Untreated soil far from the closest settlement was selected as study area (40° 34' 14.2"N, 34° 59' 05.0"E) and 8 units of different blood groups [A Rh (+), A Rh (-), B Rh (+), B Rh (-), AB Rh (+), AB Rh (-), O Rh (+), and O Rh (-)], obtained from the Hitit University Erol Olçok Training and Research Hospital Blood Center, were poured into the designated area separately (Figure 1) to determine a possible bacterial change depending on blood group. Soil without blood treatment was used as the control group (The graphic about the weather conditions in Supplementary File 1).

The first blood treatment to the soil was carried out in November-December 2020 when the temperature change is limited, and the weather is stable and cold in order to isolate the soil bacteria in the dormant form. Then, soil samples were collected on the 1st, 7th and 15th days and stored in polyethylene ziplock bags in the refrigerator at +4°C until the bacterial isolation process.



Figure 1. Under forest soil treated with blood, Çorum, 2021.



### Establishment of Studying Groups

Soil samples treated with eight different blood groups and control groups, collecting in three different periods were grouped as in Table 1.

### Bacteria Isolation from Soil

The soil samples of 1 g stored at +4°C was weighed and put into 15 ml tubes containing beads, and 9 ml of sterile Ringer's solution was added. The 10<sup>-1</sup> soil solutions were vortexed for 30 minutes to separate the micelles and spores of the microorganisms

attached to the soil colloids. Then, it was kept in a water bath at 55°C for 30 minutes to remove gram-negative bacteria and other microorganisms. It was homogenized by vortexing again. After incubation, 10-1 homogeneous solutions were diluted by serial dilution technique and 10<sup>-2</sup> and 10<sup>-3</sup> solutions were prepared (11).

### Selection, Purification and Storage of Isolates

Actinomycete and rare Actinomycete isolates were selected by considering the comparative

**Table 1.** The name and the collecting date of the soil samples treated with eight different blood groups and control groups, Çorum, 2021

	Groups	Collecting Date	Name
I. Period	A Rh (+)	03.11.2020	AP1
	A Rh (-)	03.11.2020	AN1
	B Rh (+)	03.11.2020	BP1
	B Rh (-)	03.11.2020	BN1
	AB Rh (+)	03.11.2020	ABP1
	AB Rh (-)	03.11.2020	ABN1
	O Rh (+)	03.11.2020	OP1
	O Rh (-)	03.11.2020	ON1
	Control 1st day	03.11.2020	K1
II. Period	A Rh (+)	10.11.2020	AP2
	A Rh (-)	10.11.2020	AN2
	B Rh (+)	10.11.2020	BP2
	B Rh (-)	10.11.2020	BN2
	AB Rh (+)	10.11.2020	ABP2
	AB Rh (-)	10.11.2020	ABN2
	O Rh (+)	10.11.2020	OP2
	O Rh (-)	10.11.2020	ON2
	Control 7th day	10.11.2020	K2
III. Period	A Rh (+)	17.11.2020	AP3
	A Rh (-)	17.11.2020	AN3
	B Rh (+)	17.11.2020	BP3
	B Rh (-)	17.11.2020	BN3
	AB Rh (+)	17.11.2020	ABP3
	AB Rh (-)	17.11.2020	ABN3
	O Rh (+)	17.11.2020	OP3
	O Rh (-)	17.11.2020	ON3
	Control 15th day	17.11.2020	K3



colony morphology in petri dishes incubated on GYME agar at 28 °C for 14 days. Selected colonies were inoculated with sterile loop and streaked on GYME agar supplemented with cycloheximide. Petri dishes were incubated at 28 °C for 14 days. The spores and mycelium of the pure isolates were transferred to screw cap tubes containing 35% sterile glycerol under aseptic conditions and stored at -20 °C.

### Genomic DNA Isolation, PCR amplification and Sequence Analysis

Genomic DNA of the isolates was obtained using the CTAB protocol (12). For 16S rRNA PCR amplification and sequence analysis, PCR was performed on the Biorad 100X device using the universal primers 27F and 1525R of the 16S rRNA gene region. The reaction conditions are given in Table 2. Amplification products were run on a 1.5% agarose gel at 100 volts for 30

minutes. It was observed with a UV-transilluminator. The sequences of the relevant primers are given in Table 3. The obtained PCR products were stored at -20 °C.

The pcr sequences of the products were performed by PRZ Biotech (www.przbiotech.com) Company. After the 16S rRNA gene region sequence analysis of the isolates was completed, their genus and species were determined. Sequence data of closely related organisms were manually combined with the PHYDIT program and the correlation of isolates with most closely related organisms was performed using global alignment algorithms available on the EzTaxon Server (<http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/>) (13). 16S rRNA nucleotide similarity was determined. MEGAX was used for phylogenetic analysis and CLUSTAL\_W option was used for alignment.

Table 2. Reaction Conditions

Denaturation		Amplification		Finish	
	Denaturation	Annealing	Extention	Extention	
95 °C	95 °C	60-66 °C	72 °C	72 °C	25 °C
5 min	30 s	30 s	90 s	10 min	1 min
1 cycle		30 cycle			1 cycle

Table 3. The sequences of the relevant primers

Primers	Sequence (5'-3')	Base size	Reference
27F	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	20	(14)
1525R	AAGGAGGTGATCCAGCCGCA	20	(14)

## RESULTS

### Field Studies, DNA Isolation and PCR

Bacterial isolations were performed in three replicates from soil samples for the 1st, 7th and 15th days and isolates that could distinguish between blood groups were not obtained. All of the isolates

were obtained from soil treated with B Rh (+) blood group on the 7th day. Five different isolates with different colony morphology were obtained in three repetitive isolation processes. DNA isolation of isolates was carried out according to the CTAB protocol. Nanodrop results are given in Table 4.

**Table 4.** Genomic DNA amount and purity of the isolates, Çorum, 2021

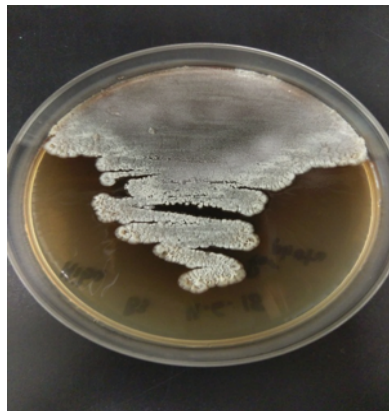
Isolates	DNA amount (ng/µl)	Purity A280/A260
<i>Streptomyces</i> sp. BPM1	324,57	1,81
<i>Micromonospora</i> sp. BPM2	652,48	1,80
<i>Micromonospora</i> sp. BPM3	400,36	1,82
<i>Actinomadura</i> sp. BPM4	362,45	1,80
<i>Micromonospora</i> sp. BPM5	374,20	1,81

### Phylogenetic Analysis of 16S rRNA Gene Sequence Data

Sequence analyzes of the isolates obtained after bacterial isolation from soils exposed to blood were performed as service procurement. 16S rRNA gene region sequences were compared using EzTaxon ([http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/;](http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/)) (13) and percent similarity was determined with the closest type species. MEGAX (15) program was used for phylogenetic analysis. Alignment of the sequences was performed using the ClustralW option via MEGAX. Phylogenetic trees of the isolates based on the 16S rRNA sequence were created with a bootstrap value of 1,000 based on the Neighbour joining method (16,17). The *p-distance* tables of the isolates were obtained by using the *p-distance* option of the same program. The cut off values of the group in which each isolate is included were calculated over the program with the same algorithms. (All sequence results are in Supplementary File 3).

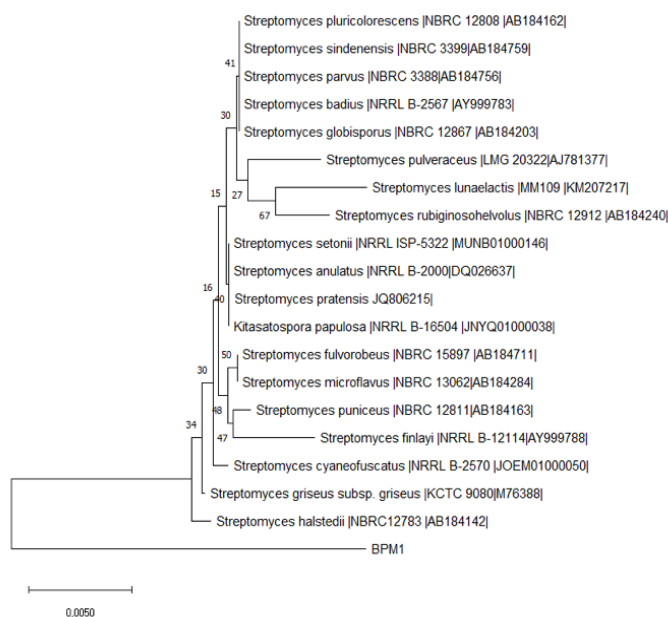
As a result of the 16S rRNA sequence analysis of the isolate with the BPM1 code, *Streptomyces* sp. genus was determined. The white mycelium colony morphology of the isolate is also supporting this finding (Figure 2). The % nucleotide similarities with the closest type species and the different nucleotide numbers are given in Table 5.

Thus, the sequence similarity of the BPM1 isolate with the closest type species is 96.69%. There are 39 nucleotide differences in the 1180 nucleotide-long gene region between the two strains. This difference ensures that the BPM1 isolate shows different branching from the type species in the phylogenetic dendogram (Figure 3) drawn with the closest type species. There are differences of 43, 43 and 44 nucleotides with the other closest type species, *Streptomyces halstedii*, *Streptomyces fulvoroheus* and *Streptomyces flavovirens*, respectively (16, 17). Due to these differences, the isolate clustered differently from the type species.

**Figure 2.** Colony morphology of *Streptomyces* sp. of BPM1 isolate, Çorum, 2022

**Table 5.** Nucleotide similarities and different nucleotide numbers of *Streptomyces* sp. *BPM1* isolate with the closest type species, Çorum, 2021

No	Bacteria	Accession Number	Nucleotide Similarity (%)	Different Nucleotide / Total Nucleotide
1	<i>Streptomyces pratensis</i>	JQ806215	96,69	39/1180
2	<i>Streptomyces halstedii</i>	AB184142	96,44	43/1210
3	<i>Streptomyces fulvorobeus</i>	AB184711	96,44	43/1209
4	<i>Streptomyces flavovirens</i>	AB184834	96,36	44/1210
5	<i>Streptomyces microflavus</i>	AB184284	96,36	44/1210
6	<i>Streptomyces anulatus</i>	DQ026637	96,36	44/1210
7	<i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	JOEM01000050	96,36	44/1210
8	<i>Kitasatospora papulosa</i>	JNYQ01000038	96,36	44/1210
9	<i>Streptomyces globisporus</i>	AB184203	96,36	44/1209
10	<i>Streptomyces pluricolorscens</i>	AB184162	96,28	45/1210

**Figure 3.** Neighbor joining phylogenetic family tree based on 16S rRNA sequence of *Streptomyces* sp. *BPM1* and type species

The *p*-distance analyzes performed with the sequence data genetic distance values of 15 subspecies are smaller than 0.0055, *Streptomyces* sp. *BPM1* isolate is thought to be a subspecies (Supplementary Files 2).

Other bacteria isolated from the soil treated

with B Rh (+) blood group was *Micromonospora* genus, generally forms orange colonies (Figure 4). The % nucleotide similarity of the *BPM2* isolate with the closest type species and the differences in nucleotide numbers are given in Table 6.

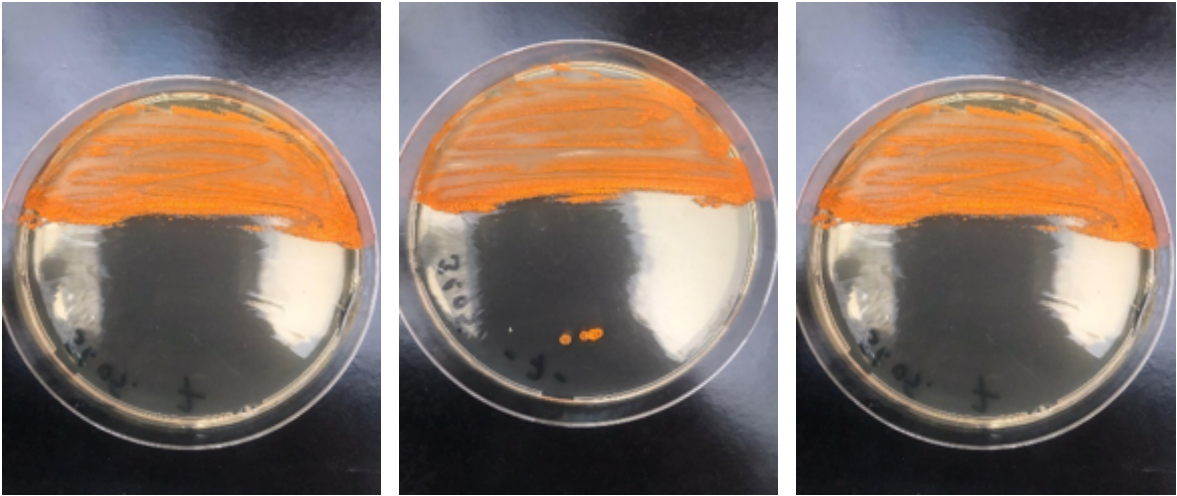


Figure 4. Colony morphologies of isolates of *Micromonospora* genus, BPM2, BPM3 and BPM5, respectively, Çorum, 2021

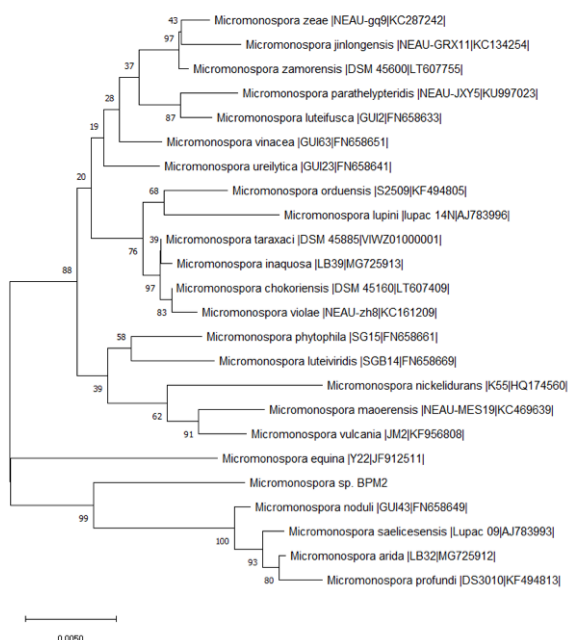
Table 6. Nucleotide similarities and different nucleotide numbers of *Micromonospora* sp. BPM2 isolate with the closest type species, Çorum, 2021

No	Bacteria	Accession Number	Nucleotide Similarity (%)	Different Nucleotide / Total Nucleotide
1	<i>Micromonospora arida</i>	MG725912	98,08	23/1204
2	<i>Micromonospora saelicesensis</i>	AJ783993	97,92	25/1204
3	<i>Micromonospora ureilytica</i>	FN658641	97,84	26/1204
4	<i>Micromonospora profundi</i>	KF494813	97,75	27/1204
5	<i>Micromonospora noduli</i>	FN658649	97,67	28/1204
6	<i>Micromonospora taraxaci</i>	VIWZ01000001	97,50	30/1204
7	<i>Micromonospora chokoriensis</i>	LT607409	97,42	31/1204
8	<i>Micromonospora inaquosa</i>	MG725913	97,42	31/1204
9	<i>Micromonospora vinacea</i>	FN658651	97,42	31/1204
10	<i>Micromonospora violae</i>	KC161209	97,33	32/1203

According to these results, *Micromonospora arida* is the closest type of *Micromonospora* sp. BPM2 isolate with 98.08% similarity. There are 23 nucleotide difference between the type of strain and the isolate. There is 97.92%, 97.84%, 97.75% and 97.67% nucleotide similarity with *Micromonospora saelicesensis*, *Micromonospora ureilytica*, *Micromonospora profundi*, and *Micromonospora nodule*, respectively

(16,17). These five species are also grouped in the same cluster in the phylogenetic tree (Figure 5).

The cut off value of *Micromonospora* sp. BPM2 isolate according to the p-distance table was 0.0097. Organisms with a genetic distance value greater than 0.009 can be considered as different species. Since it is likely to be a subspecies. (Supplementary File 2).



**Figure 5.** Neighbor joining phylogenetic family tree based on 16S rRNA sequence of *Micromonospora* sp. BPM2 and type species

The closest type of *Micromonospora* sp. isolate BPM3 is identified as *Micromonospora phytophila*. There is 30 nucleotide difference and 97.33% nucleotide similarity between isolate and type. The other closest type species with a difference of

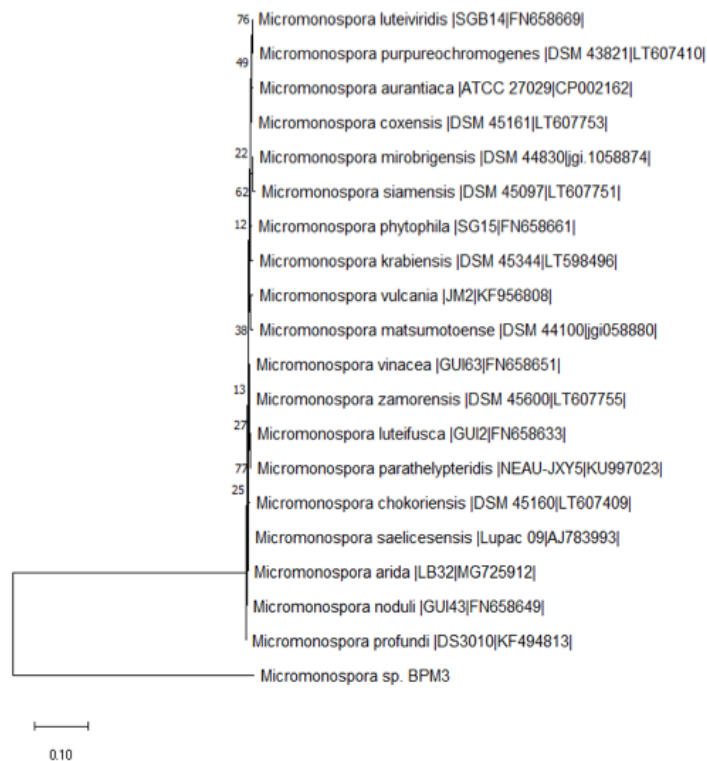
31 nucleotides are *Micromonospora saelicesensis*, *Micromonospora noduli* and *Micromonospora luteifusca*. There is approximately 97% of 16S rRNA gene region sequence similarity with these types (Table 7).

**Table 7.** Nucleotide similarities and different nucleotide numbers of *Micromonospora* sp. BPM3 isolate with the closest type species, Çorum, 2021

No	Bacteria	Accession Number	Nucleotide Similarity (%)	Different Nucleotide / Total Nucleotide
1	<i>Micromonospora phytophila</i>	FN658661	97,33	30/1127
2	<i>Micromonospora saelicesensis</i>	AJ783993	97,29	31/1146
3	<i>Micromonospora noduli</i>	FN658649	97,28	31/1140
4	<i>Micromonospora luteifusca</i>	FN658633	97,27	31/1138
5	<i>Micromonospora arida</i>	MG725912	97,20	32/1146
6	<i>Micromonospora vinacea</i>	FN658651	97,16	32/1129
7	<i>Micromonospora parathelypteridis</i>	KU997023	97,12	33/1146
8	<i>Micromonospora vulcania</i>	KF956808	97,11	33/1145
9	<i>Micromonospora luteiviridis</i>	FN658669	97,10	33/1138
10	<i>Micromonospora purpureochromogenes</i>	LT607410	97,03	34/1146

According to the phylogenetic dendrogram drawn with *Micromonospora* sp. BPM3 and the closest type species, it is seen that the isolate clustered in close branches with the closest type species (16,17) (Figure 6). According to the genetic distance data obtained through the MEGAX program, the cut-off

value of the group including the BPM3 isolate; it is set at 0.0749. Organisms with a genetic distance value above this value are considered as different species. Since the genetic distance values of the BPM3 isolate are less than 0.07, it is considered to be a subspecies (Supplementary File 2).



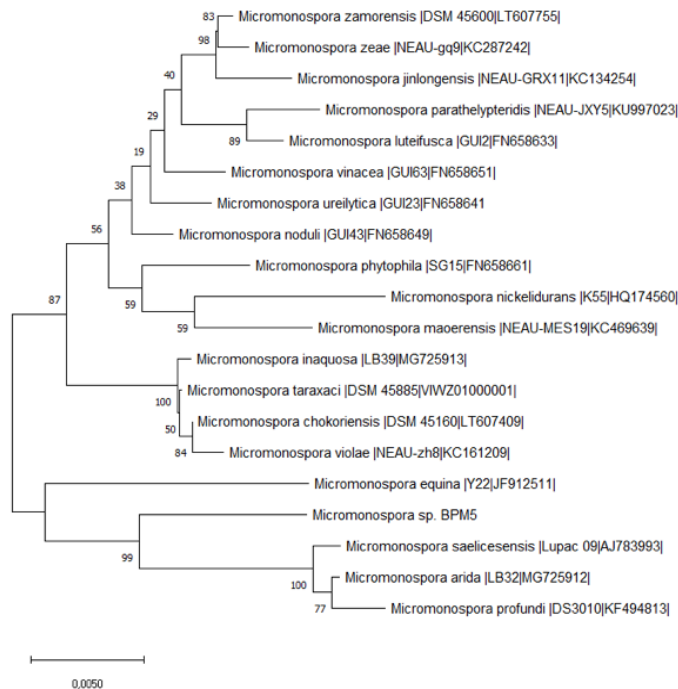
**Figure 6.** Neighbor joining phylogenetic family tree based on 16S rRNA sequence of *Micromonospora* sp. BPM3 and type species

*Micromonospora* sp. with 97.90% sequence similarity of the BPM5 isolate, the most common type is *Micromonospora arida* (16,17). There are 25 nucleotide difference between the isolate and the types. Organisms with a difference of 27, 28, 29 and 30 nucleotides, respectively, are *Micromonospora saelicesensis*, *Micromonospora ureilytica*, *Micromonospora profundi*, *Micromonospora noduli*

and *Micromonospora vinacea* (Table 8). The cut-off value of the isolate, which shows close clustering in the phylogenetic dendrogram with all these types (Figure 7), was determined as 0.0157. This isolate is considered to be a subspecies since it has a genetic distance value of less than 0.01 with the closest type species (Supplementary File 2).

**Table 8.** Nucleotide similarities and different nucleotide numbers of *Micromonospora* sp. *BPM5* isolate with the closest type species, Çorum, 2021.

No	Bacteria	Accession Number	Nucleotide Similarity (%)	Different Nucleotide / Total Nucleotide
1	<i>Micromonospora arida</i>	MG725912	97,90	25/1196
2	<i>Micromonospora saelicesensis</i>	AJ783993	97,74	27/1196
3	<i>Micromonospora ureilytica</i>	FN658641	97,65	28/1196
4	<i>Micromonospora profundu</i>	KF494813	97,57	29/1196
5	<i>Micromonospora noduli</i>	FN658649	97,49	30/1196
6	<i>Micromonospora vinacea</i>	FN658651	97,49	30/1196
7	<i>Micromonospora taraxaci</i>	VIWZ01000001	97,32	32/1196
8	<i>Micromonospora chokoriensis</i>	LT607409	97,24	33/1196
9	<i>Micromonospora inaquosa</i>	MG725913	97,24	33/1196
10	<i>Micromonospora zamorensis</i>	LT607755	97,15	34/1196

**Figure 7.** Neighbor joining phylogenetic family tree based on 16S rRNA sequence of *Micromonospora* sp. *BPM5* and type species



The isolate with the BPM4 code is an organism with white dots, mycelium and spore colonies (Figure 8). According to the 16S rRNA sequence data, the closest type of the organism, which was determined to belong to the genus *Actinomadura*, was determined as *Actinomadura cremea* with 98.40% nucleotide similarity. Sequence similarity and nucleotide differences with other type species are given in Table 9.

Although it shows close clustering in the phylogenetic tree with the closest type species (Figure 9), the genetic distance of the BPM4 isolate, which still has a different distance, is 0.0879. According to the genetic distance table; Due to the p-distance values of approximately 0.01 with the type species, *Actinomadura* sp. It is thought that the BPM4 isolate may also be a subspecies.

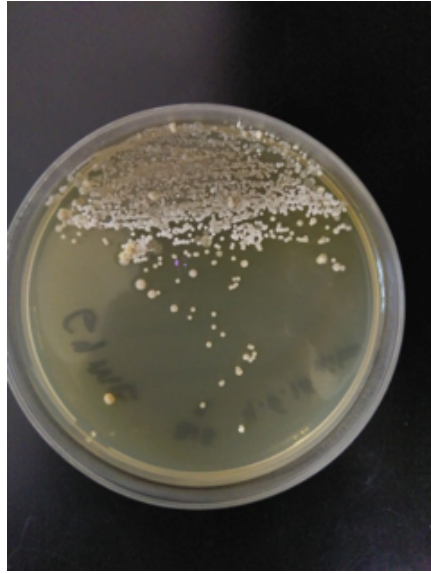


Figure 8. Colony morphologies of isolates of *Actinomadura* sp. BPM4, Çorum, 2021

Table 9. Nucleotide similarities and different nucleotide numbers of *Actinomadura* sp. BPM4 isolate with the closest type species, Çorum, 2021.

No	Bacteria	Accession Number	Nucleotide Similarity (%)	Different Nucleotide / Total Nucleotide
1	<i>Actinomadura cremea</i>	AF134067	98,40	19/1189
2	<i>Actinomadura sediminis</i>	JF272484	97,73	27/1191
3	<i>Actinomadura lepetitiana</i>	MH061375	97,64	28/1190
4	<i>Actinomadura algeriensis</i>	KT259320	97,64	28/1189
5	<i>Actinomadura mexicana</i>	AF277195	97,64	28/1188
6	<i>Actinomadura maheshkhaliensis</i>	AB331731	97,60	28/1169
7	<i>Actinomadura deserti</i>	MF972517	97,56	29/1190
8	<i>Actinomadura apis</i>	AB557596	97,48	30/1191
9	<i>Actinomadura formosensis</i>	AF002263	97,39	31/1191
10	<i>Actinomadura madurae</i>	jgi.1068094	97,39	31/1190

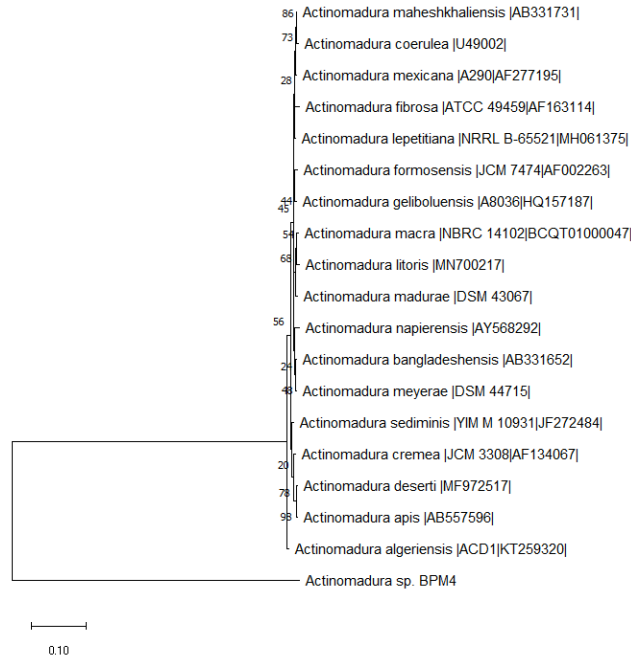


Figure 9. Neighbor joining phylogenetic family tree based on 16S rRNA sequence of *Actinomadura* sp. *BPM4* and type species

## DISCUSSION

For nearly 100 years, microbiology has played a relatively minor role in forensic science (3). The emergence of PCR-mediated bacterial genotyping was recognized as a valuable tool in the future of forensic science (18). Fungal, pollen and spore analyses developed in the mid-1990s have enabled forensic scientists to relate to many fields (19,20). However, until the rise of bioterrorism in the early 2000s, microbial forensics or forensic microbiology was not used in forensic analysis (21,23).

The primary goal of forensic microbiology is to reference data from evidence samples comparison with examples. Microbial forensic research focuses on the detection and characterization of the biological agent in addition to non-biological evidence. Biological agents consist of bacteria, viruses, protists, fungi and toxins, additives, growth medium, habitat, growing

conditions, intelligence, etc. Non-biological evidence such as microbial forensic science can be useful and potentially provide clues to researchers (22).

Microbial forensic evidence can be found in a wide variety of sample matrices, including food, water, air filters, swabs and swabs, soil, animal tissue, and clinical samples (eg, tissue, sputum, blood, feces, urine). In this context, fingerprints, human or animal DNA; traditional forensic evidence such as heat, fibers and hair can also be analyzed. However, determining the effects of humans and their secretions on microbial systems is one of the new approaches of forensic microbiology. Both the determination of the biodiversity of a region and the interaction of various bodily fluids with the environment can provide evidence that affects forensic processes (21,23). In our study, it was aimed to determine the change in Actinobacteria species, which are indispensable members of the soil, by pouring blood samples

from eight different blood groups into forest soil.

Forensic microbial methods; culture, microscopy, immunoassays, mass spectrometry, real-time PCR, microarray, genetic typing, whole genome sequencing, and more. Culture is still considered the gold standard for pathogen detection (24). However, culture many times cannot provide a solution beyond the genus or species level and may not be effective for response, especially when the safety of individuals is a pressing concern, as there can be significant latency due to the growth requirements of the microorganism. In addition, approximately 99% of microorganisms cannot be cultured by current methods; therefore, culture is not a reliable method for susceptible and possibly new/uncharacterized microorganisms. In addition, the microbes may have been exposed to environmental attack and may no longer live. Therefore, microorganism culture techniques should be performed with great care. While culture and immunoassays are adequate methods for initial testing and sample screening, nucleic acid typing is generally more analytical. An unbiased, more comprehensive method of genome screening is needed to extract the most analytical information possible (25). As it is mentioned by some of the authors, it was faced with the difficulty of culturing in our study as well. Although all isolation studies were performed in triplicate, no Actinobacteria growth was observed neither in the control group nor in the soils to which other blood groups were added except B Rh (+) one. We could obtain only five Actinobacteria type bacteria from the samples taken from eight different blood groups and control groups. Bacterial isolation should be attempted at different pH, temperature and salt concentrations, because of the limitation of the budget, we only used GYME (ISP2) agar, which is a selective media for Actinobacteria. However, different media should be tried for getting more reliable results in addition to this one.

Interestingly, all bacteria isolated were obtained from soil belonging to the B Rh (+) blood group belonging to the 7th day. The inability to isolate

Actinobacteria from the majority of soils exposed to blood may be due to the chemical properties of the blood or the enzymes in it that can degrade bacterial spores. Although it has been studied in the pH range (-7.3-7.4) equivalent to blood in the preparation of the medium, some enzymes in the blood (lactate dehydrogenase, aspartate transaminase, etc.) may show weak acidic properties (26). This can cause bacterial spores to disappear or lose their viability.

Recent studies show that bacterial communities obtained from surface soil and buried soil exhibit different behaviors during the decomposition process of the corpse. While microbial communities from the surface soil show a decreasing trend in taxon richness, diversity and smoothness; microbial communities in close contact with buried cadavers exhibit contrasting characteristics (increased taxon richness, consistent diversity and decreased regularity, etc.). Also, Proteobacteria is the most abundant phylum in burial soil samples, while the relative abundance of Acidobacteria decreases and Firmicutes species increase in surface cadaver-soil assemblages. Microbial diversity remains fairly constant in buried soil communities (27). Delgado-Baquerizo et al. (28) argues that creating comprehensive maps of the geographical distribution of microbial communities will be useful in forensic microbiology. In our study, we aimed to determine the change of soil bacteria by pouring blood samples from eight different blood groups into forest soil.

Actinobacteria are mycelial, gram-positive bacteria with enormous diversity, they have high economic value and they are rich in Guanine-Cytosine (GC). They are found in a wide variety of soil habitats. They survive as endophytes in plant tissues and contribute to their growth by nutrient assimilation (29). Actinobacteria protect their hosts and food sources from pathogen attacks via colonizing the outside or inside of insects (30). Moreover, they can survive even in extreme environments such as the deep ocean and maintain nutrient cycles under harsh conditions (31,32). The adaptation and interaction

of Actinobacteria to diverse environments have led to the evolution of their distinct biosynthetic potential. Therefore, they can produce a wide range of secondary metabolites (33) and they have quite high economic values. That is why we have selected Actinobacteria as an indicator bacterium for our study.

So far 47 families and 711 species of Actinobacteria were isolated and identified in variety of habitats. Actinobacterial families such as Streptomycetaceae, Pseudonocardiaceae, Nocardia ceae, Micromonosporaceae, Streptosporangiaceae and Thermomonosporaceae have the widest diversity and highest economic value. Streptomycetaceae has 26.5 % of the new actinobacteria reported in the last five years. The enormous increase in the number of recently identified species indicates that the Pseudonocardiaceae, Nocardioideaceae, Micromonosporaceae, Nocardiaceae and Streptosporangiaceae are also no longer rare (34). In our study, *Micromonospora* sp., *Streptomyces* sp., and *Actinomadura* sp. were identified as strains belonging to this genus.

Metagenomic methods provide a culture-independent method to study microorganisms and DNA samples collected directly from environmental samples and they enable to microbial diversity determination studies (35). The most widely used method in bacterial metagenomic studies is metabarcoding. Diversity determination based on 16S rRNA metabarcoding gives more reliable results than culture. Many forensic applications are limited to individual taxon analysis. The most challenging concept for forensic microbiology is the lack of cost-effective sequencing technologies (36,37). Advances in genomic sequencing technology and new methods for processing complex datasets have led to the emergence of a new microbiomic field (38).

Bacterial taxonomy is important to provide adequate information about the identity and uniqueness of a species in ecological, clinical and industrial niche settings. Bacterial taxonomy consists of classification, naming and identification steps.

There are two basic approaches to classification. The first is the % GC content based on the similarity between microorganisms and the morphological and physiological characters including DNA-DNA homology. The other is based on chemotaxonomic markers such as protein, fatty acid profiles, sugar contents (39).

In phylogenetic systematics, it uses nucleotide sequences of conserved genes called molecular chronometers. A combination of both phenotypic and phylogenetic is called polyphasic taxonomy which is useful for identifying new species and genera. Numerical analysis of small subunit ribosomal RNA (rRNA) genes has formed the basis of microbial phylogenetics, resulting in branching trees representing the distance from a common ancestor although some limitations, especially in distinguishing closely related taxa (40).

DNA-DNA hybridization (DDH) is a technique based on comparative analysis between the total DNA of two bacterial species (41). DDH is considered the gold standard for bacterial species classification. The DNA molecule can be denatured and renatured by changing the temperature. The main parameters that play an important role in this technique are (1) % G+C content, (2) The ionic strength of the solution, (3) Its melting temperature ( $T_m$ ) (Raina et al., 2019). More than 5,000 bacterial species have been effectively identified using this technique (42).

Another hybridization method is the DNA microarray technique involving the use of DNA fragments. A set of fragmented DNAs can be hybridized on a single microarray plate and can generate a large amount of data. This method is used for virulence/pathogenicity detection by identifying strain among pathogenic bacterial strains (43).

The 16S rRNA gene is a highly conserved gene consisting of nine hypervariable domains separated by more conserved fragments that can be used to design universal primers. Thanks to the 16S rRNA gene, many pre-existing taxa have been reclassified and more species have been identified. Two strains were considered to belong to different species if they shared less than 97% 16S rRNA gene sequence similarity

(44), and if this value was less than 95%, they were considered to distinguish between two genera (45).

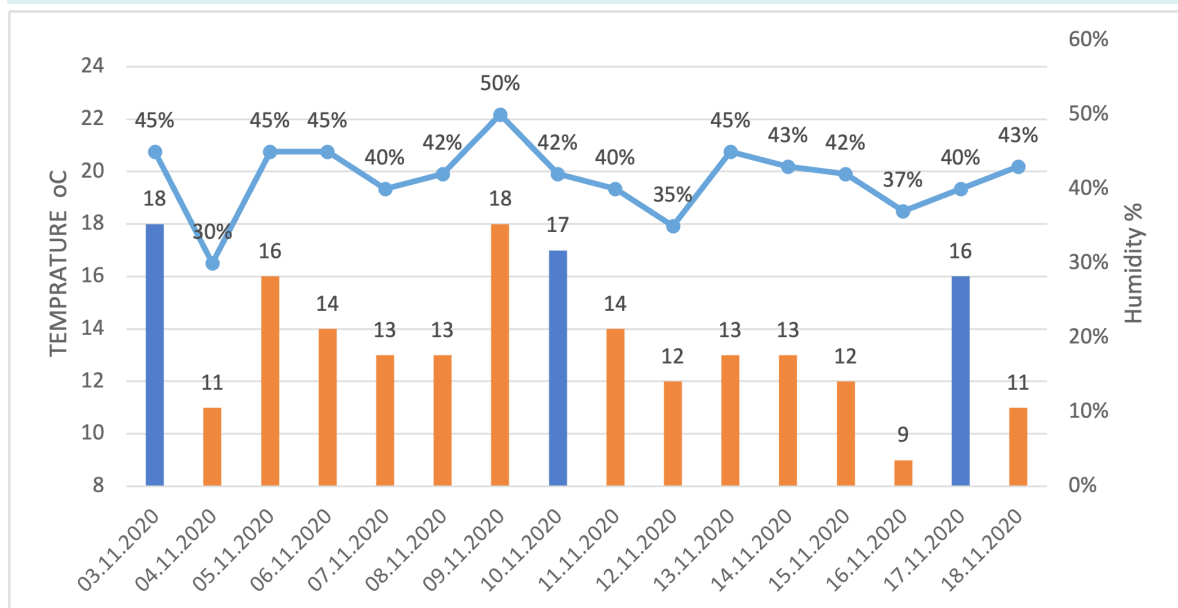
This study aimed to show the effect of blood groups on soil biodiversity. However, very limited data were obtained due to the small number of bacteria isolated, It could be related with the use of stable growing conditions during the isolation process and the preference for a single medium. In future studies, different isolation conditions (different pH, temperature, salt concentration and different medium) are planning to be tried for culture.

Of the five isolates, three of them are *Micromonospora* sp., one is *Streptomyces* sp., and the other one is *Actinomadura* sp. According to the analyzes made with the data obtained from 16S rRNA sequencing, % nucleotide similarities with the closest relatives of all isolates and different nucleotide numbers were determined, and phylogenetic trees

and genetic distance graphs were drawn. According to the *p-distance* values of all isolates, they were considered as subspecies rather than new species.

This study is only a preliminary study to identify bacterial communities that may be present in soil exposed to blood. In order to evaluate the further results accurately, other genomic techniques to determine the exact location of the test isolates in a phylogenetic system should be tried in addition to alternative cultures. Such as carbon and nitrogen sources, degradation, pH, temperature and salt tolerance, phenotypic characteristics like spore morphology, chemotaxonomic analyzes like DAP (diaminopimelic acid test), determination of fatty acid profiles, cell wall analysis, and defining sugar could be used additionally for complete discrimination with 16S rRNA metabarcoding.

Supplementary File 1



## Supplementary File 2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1. <i>Streptomyces</i> sp. BPM1		0,0046	0,0046	0,0047	0,0048	0,0047	0,0047	0,0047	0,0047	0,0047	0,0047	0,0048	0,0049	0,0045	0,0047
2. <i>Streptomyces pratensis</i> JQ806215]	0,0263		0,0014	0,0011	0,0011	0,0000	0,0010	0,0000	0,0007	0,0007	0,0000	0,0014	0,0023	0,0011	0,0007
3. <i>Streptomyces halstedii</i> [NBRC12783  AB184142]	0,0265	0,0029		0,0014	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014	0,0015	0,0015	0,0014	0,0017	0,0023	0,0012	0,0015
4. <i>Streptomyces fulvorobeus</i> [NBRC 15897  AB184711]	0,0265	0,0015	0,0028		0,0000	0,0010	0,0010	0,0010	0,0012	0,0012	0,0010	0,0010	0,0024	0,0010	0,0012
5. <i>Streptomyces microflavus</i> [NBRC 13062 AB184284]	0,0273	0,0015	0,0028	0,0000		0,0010	0,0010	0,0010	0,0012	0,0012	0,0010	0,0010	0,0024	0,0010	0,0012
6. <i>Streptomyces anulatus</i> [NRRL B-2000 DQ026637]	0,0273	0,0000	0,0028	0,0014	0,0014		0,0010	0,0000	0,0007	0,0007	0,0000	0,0014	0,0022	0,0010	0,0007
7. <i>Streptomyces cyaneofuscatus</i> [NRRL B-2570  JOEM01000050]	0,0273	0,0015	0,0028	0,0014	0,0014	0,0014		0,0010	0,0012	0,0012	0,0010	0,0014	0,0022	0,0010	0,0012
8. <i>Kitasatospora papulosa</i> [NRRL B-16504  JNYQ01000038]	0,0273	0,0000	0,0028	0,0014	0,0014	0,0000	0,0014		0,0007	0,0007	0,0000	0,0014	0,0022	0,0010	0,0007
9. <i>Streptomyces globisporus</i> [NBRC 12867  AB184203]	0,0273	0,0007	0,0035	0,0021	0,0021	0,0007	0,0021	0,0007		0,0000	0,0007	0,0012	0,0021	0,0012	0,0000
10. <i>Streptomyces pluricollarens</i> [NBRC 12808  AB184162]	0,0281	0,0007	0,0035	0,0021	0,0021	0,0007	0,0021	0,0007	0,0000		0,0007	0,0012	0,0021	0,0012	0,0000
11. <i>Streptomyces setonii</i> [NRRL ISP-5322  MUNB01000146]	0,0273	0,0000	0,0028	0,0014	0,0014	0,0000	0,0014	0,0000	0,0007	0,0007		0,0014	0,0022	0,0010	0,0007
12. <i>Streptomyces puniceus</i> [NBRC 12811 AB184163]	0,0289	0,0029	0,0041	0,0014	0,0014	0,0028	0,0028	0,0028	0,0021	0,0021	0,0028		0,0025	0,0013	0,0012
13. <i>Streptomyces lunaeolactis</i> [MM109  KM207217]	0,0318	0,0073	0,0085	0,0085	0,0085	0,0070	0,0070	0,0070	0,0063	0,0063	0,0070	0,0085		0,0024	0,0021
14. <i>Streptomyces griseus</i> subsp. <i>griseus</i> [KCTC 9080 M76388]	0,0257	0,0015	0,0021	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014	0,0014	0,0021	0,0021	0,0014	0,0028	0,0085		0,0012
15. <i>Streptomyces badius</i> [NRRL B-2567  AY999783]	0,0281	0,0007	0,0035	0,0021	0,0021	0,0007	0,0021	0,0007	0,0000	0,0000	0,0007	0,0021	0,0063	0,0021	

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1. <i>Micromonospora</i> sp. BPM2		0,0036	0,0038	0,0038	0,0039	0,0040	0,0040	0,0042	0,0043	0,0043	0,0043	0,0043	0,0044	0,0045	0,0046
2. <i>Micromonospora arida</i> [LB32 MG725912]	0,0151		0,0012	0,0013	0,0014	0,0016	0,0019	0,0018	0,0019	0,0020	0,0021	0,0021	0,0022	0,0024	0,0025
3. <i>Micromonospora saelicesensis</i> [Lupac 09 AJ783993]	0,0167	0,0021		0,0017	0,0019	0,0018	0,0020	0,0018	0,0019	0,0020	0,0021	0,0021	0,0023	0,0026	0,0026
4. <i>Micromonospora ureilytica</i> [GUI23 FN658641]	0,0176	0,0028	0,0049		0,0020	0,0021	0,0023	0,0022	0,0023	0,0024	0,0019	0,0025	0,0020	0,0028	0,0025
5. <i>Micromonospora profunda</i> [DS3010 KF494813]	0,0184	0,0028	0,0049	0,0056		0,0019	0,0022	0,0020	0,0019	0,0022	0,0026	0,0022	0,0027	0,0029	0,0030
6. <i>Micromonospora noduli</i> [GUI43 FN658649]	0,0192	0,0035	0,0042	0,0063	0,0049		0,0020	0,0019	0,0020	0,0021	0,0023	0,0023	0,0024	0,0022	0,0024
7. <i>Micromonospora vinacea</i> [GUI63 FN658651]	0,0192	0,0049	0,0056	0,0078	0,0063	0,0056		0,0023	0,0024	0,0024	0,0020	0,0025	0,0022	0,0025	0,0024
8. <i>Micromonospora taraxaci</i> [DSM 45885 VIWZ01000001]	0,0209	0,0049	0,0049	0,0077	0,0063	0,0056	0,0071		0,0007	0,0007	0,0026	0,0012	0,0027	0,0028	0,0029
9. <i>Micromonospora chokoriensis</i> [DSM 45160 LT607409]	0,0217	0,0056	0,0056	0,0084	0,0056	0,0063	0,0078	0,0007		0,0010	0,0027	0,0010	0,0028	0,0029	0,0030
10. <i>Micromonospora inaquosa</i> [LB39 MG725913]	0,0217	0,0056	0,0056	0,0084	0,0070	0,0063	0,0078	0,0007	0,0014		0,0027	0,0014	0,0028	0,0029	0,0030
11. <i>Micromonospora zamorensis</i> [DSM 45600 LT607755]	0,0226	0,0070	0,0063	0,0056	0,0097	0,0077	0,0063	0,0097	0,0104	0,0104		0,0028	0,0012	0,0024	0,0021
12. <i>Micromonospora violae</i> [NEAU-zh8 KC161209]	0,0226	0,0070	0,0070	0,0098	0,0070	0,0077	0,0092	0,0021	0,0014	0,0028	0,0118		0,0030	0,0031	0,0031
13. <i>Micromonospora zeae</i> [NEAU-gg9 KC287242 97.07]	0,0234	0,0077	0,0084	0,0063	0,0104	0,0084	0,0071	0,0111	0,0118	0,0118	0,0021	0,0132		0,0025	0,0022
14. <i>Micromonospora parathelypteridis</i> [NEAU-JXY5 KU997023]	0,0251	0,0090	0,0097	0,0119	0,0118	0,0070	0,0099	0,0125	0,0132	0,0132	0,0090	0,0146	0,0097		0,0018
15. <i>Micromonospora luteifusca</i> [GUI2 FN658633]	0,0251	0,0084	0,0091	0,0091	0,0112	0,0077	0,0078	0,0119	0,0126	0,0126	0,0063	0,0140	0,0070	0,0049	

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1. <i>Micromonospora</i> sp. BPM2		0,0036	0,0038	0,0038	0,0039	0,0040	0,0040	0,0042	0,0043	0,0043	0,0043	0,0043	0,0044	0,0045	0,0046
2. <i>Micromonospora arida</i> [LB32 MG725912]	0,0151		0,0012	0,0013	0,0014	0,0016	0,0019	0,0018	0,0019	0,0020	0,0021	0,0021	0,0022	0,0024	0,0025
3. <i>Micromonospora saelicesensis</i> [Lupac 09 AJ783993]	0,0167	0,0021		0,0017	0,0019	0,0018	0,0020	0,0018	0,0019	0,0020	0,0021	0,0021	0,0023	0,0026	0,0026
4. <i>Micromonospora ureilytica</i> [GUI23 FN658641]	0,0176	0,0028	0,0049		0,0020	0,0021	0,0023	0,0022	0,0023	0,0024	0,0019	0,0025	0,0020	0,0028	0,0025
5. <i>Micromonospora profunda</i> [DS3010 KF494813]	0,0184	0,0028	0,0049	0,0056		0,0019	0,0022	0,0020	0,0019	0,0022	0,0026	0,0022	0,0027	0,0029	0,0030
6. <i>Micromonospora noduli</i> [GUI43 FN658649]	0,0192	0,0035	0,0042	0,0063	0,0049		0,0020	0,0019	0,0020	0,0021	0,0023	0,0023	0,0024	0,0022	0,0024
7. <i>Micromonospora vinacea</i> [GUI63 FN658651]	0,0192	0,0049	0,0056	0,0078	0,0063	0,0056		0,0023	0,0024	0,0024	0,0020	0,0025	0,0022	0,0025	0,0024
8. <i>Micromonospora taraxaci</i> [DSM 45885 VIWZ01000001]	0,0209	0,0049	0,0049	0,0077	0,0063	0,0056	0,0071		0,0007	0,0007	0,0026	0,0012	0,0027	0,0028	0,0029
9. <i>Micromonospora chokoriensis</i> [DSM 45160 LT607409]	0,0217	0,0056	0,0056	0,0084	0,0056	0,0063	0,0078	0,0007		0,0010	0,0027	0,0010	0,0028	0,0029	0,0030
10. <i>Micromonospora inaquosa</i> [LB39 MG725913]	0,0217	0,0056	0,0056	0,0084	0,0070	0,0063	0,0078	0,0007	0,0014		0,0027	0,0014	0,0028	0,0029	0,0030
11. <i>Micromonospora zamorensis</i> [DSM 45600 LT607755]	0,0226	0,0070	0,0063	0,0056	0,0097	0,0077	0,0063	0,0097	0,0104	0,0104		0,0028	0,0012	0,0024	0,0021
12. <i>Micromonospora violae</i> [NEAU-zh8 KC161209]	0,0226	0,0070	0,0070	0,0098	0,0070	0,0077	0,0092	0,0021	0,0014	0,0028	0,0118		0,0030	0,0031	0,0031
13. <i>Micromonospora zeae</i> [NEAU-gg9 KC287242 97.07]	0,0234	0,0077	0,0084	0,0063	0,0104	0,0084	0,0071	0,0111	0,0118	0,0118	0,0021	0,0132		0,0025	0,0022
14. <i>Micromonospora parathelypteridis</i> [NEAU-JXY5 KU997023]	0,0251	0,0090	0,0097	0,0119	0,0118	0,0070	0,0099	0,0125	0,0132	0,0132	0,0090	0,0146	0,0097		0,0018
15. <i>Micromonospora luteifusca</i> [GUI2 FN658633]	0,0251	0,0084	0,0091	0,0091	0,0112	0,0077	0,0078	0,0119	0,0126	0,0126	0,0063	0,0140	0,0070	0,0049	



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1. <i>Actinomadura</i> sp. BPM4		0.0142	0.0142	0.0142	0.0142	0.0142	0.0141	0.0142	0.0142	0.0141	0.0143	0.0141	0.0141	0.0143	0.0142
2. <i>Actinomadura</i> crema [JCM 3308 AF134067]	0.5629		0.0031	0.0035	0.0033	0.0038	0.0036	0.0032	0.0030	0.0038	0.0037	0.0040	0.0040	0.0039	0.0038
3. <i>Actinomadura</i> sediminis [YIM M 10931 JF272484]	0.5621	0.0140		0.0031	0.0029	0.0038	0.0034	0.0033	0.0036	0.0035	0.0036	0.0039	0.0041	0.0037	0.0033
4. <i>Actinomadura</i> lepetitiana [NRRL B-65521 MH061375]	0.5626	0.0196	0.0146		0.0037	0.0027	0.0023	0.0041	0.0039	0.0030	0.0032	0.0028	0.0037	0.0033	0.0021
5. <i>Actinomadura</i> algeriensis [ACD1 KT259320]	0.5588	0.0154	0.0125	0.0216		0.0042	0.0040	0.0040	0.0038	0.0042	0.0040	0.0045	0.0038	0.0041	0.0041
6. <i>Actinomadura</i> mexicana [A290 AF277195]	0.5618	0.0226	0.0218	0.0106	0.0268		0.0021	0.0042	0.0041	0.0033	0.0031	0.0028	0.0040	0.0033	0.0033
7. <i>Actinomadura</i> maheshkhaliensis [AB331731]	0.5618	0.0192	0.0176	0.0077	0.0247	0.0064		0.0043	0.0040	0.0031	0.0035	0.0021	0.0040	0.0034	0.0030
8. <i>Actinomadura</i> deserti [MF972517]	0.5654	0.0140	0.0160	0.0250	0.0216	0.0261	0.0261		0.0023	0.0044	0.0040	0.0047	0.0043	0.0042	0.0043
9. <i>Actinomadura</i> apis [AB557596]	0.5645	0.0126	0.0188	0.0236	0.0195	0.0261	0.0233	0.0076		0.0043	0.0041	0.0045	0.0041	0.0041	0.0042
10. <i>Actinomadura</i> formosensis [JCM 7474 AF002263]	0.5621	0.0224	0.0194	0.0125	0.0264	0.0155	0.0141	0.0285	0.0271		0.0038	0.0035	0.0040	0.0036	0.0033
11. <i>Actinomadura</i> madurae [DSM 43067]	0.5634	0.0232	0.0202	0.0146	0.0265	0.0141	0.0176	0.0244	0.0257	0.0209		0.0040	0.0037	0.0030	0.0031
12. <i>Actinomadura</i> coerulea [U49002]	0.5628	0.0242	0.0227	0.0114	0.0299	0.0114	0.0065	0.0313	0.0299	0.0177	0.0214		0.0044	0.0039	0.0035
13. <i>Actinomadura</i> napierensis [AY568292]	0.5655	0.0238	0.0246	0.0179	0.0216	0.0216	0.0216	0.0276	0.0246	0.0208	0.0186	0.0254		0.0040	0.0034
14. <i>Actinomadura</i> macra [NBRC 14102 BCQT01000047]	0.5597	0.0260	0.0223	0.0160	0.0265	0.0169	0.0177	0.0279	0.0272	0.0195	0.0132	0.0214	0.0216		0.0034
15. <i>Actinomadura</i> bangladeshensis [AB331652]	0.5626	0.0231	0.0173	0.0069	0.0257	0.0169	0.0141	0.0271	0.0271	0.0173	0.0132	0.0177	0.0164	0.0167	

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1. <i>Micromonospora</i> sp. BPM5		0.0035	0.0036	0.0037	0.0037	0.0038	0.0038	0.0040	0.0041	0.0041	0.0041	0.0042	0.0042	0.0043	0.0043
2. <i>Micromonospora</i> arida [LB32 MG725912]	0.0151		0.0012	0.0038	0.0013	0.0038	0.0033	0.0040	0.0040	0.0040	0.0044	0.0041	0.0044	0.0045	0.0042
3. <i>Micromonospora</i> saelicesensis [Lupac 09 AJ783993]	0.0167	0.0021		0.0040	0.0017	0.0038	0.0033	0.0039	0.0039	0.0040	0.0042	0.0041	0.0044	0.0045	0.0042
4. <i>Micromonospora</i> urelytica [GUI23 FN658641]	0.0176	0.0210	0.0224		0.0041	0.0018	0.0021	0.0026	0.0027	0.0027	0.0019	0.0029	0.0021	0.0028	0.0025
5. <i>Micromonospora</i> profundus [DS3010 KF494813]	0.0184	0.0028	0.0049	0.0238		0.0039	0.0034	0.0041	0.0040	0.0041	0.0046	0.0042	0.0046	0.0047	0.0044
6. <i>Micromonospora</i> noduli [GUI43 FN658649]	0.0192	0.0217	0.0217	0.0056	0.0231		0.0020	0.0024	0.0025	0.0025	0.0021	0.0027	0.0022	0.0023	0.0023
7. <i>Micromonospora</i> vinacea [GUI63 FN658651]	0.0192	0.0155	0.0195	0.0071	0.0169	0.0056		0.0025	0.0026	0.0026	0.0020	0.0028	0.0020	0.0026	0.0023
8. <i>Micromonospora</i> taraxaci [DSM 45885 VIWZ01000001]	0.0209	0.0230	0.0223	0.0105	0.0244	0.0084	0.0092		0.0007	0.0007	0.0028	0.0011	0.0029	0.0032	0.0032
9. <i>Micromonospora</i> chokoriensis [DSM 45160 LT607409]	0.0217	0.0237	0.0230	0.0112	0.0237	0.0091	0.0099	0.0007		0.0010	0.0029	0.0009	0.0030	0.0033	0.0032
10. <i>Micromonospora</i> inaquosa [LB39 MG725913]	0.0217	0.0237	0.0230	0.0112	0.0251	0.0091	0.0099	0.0007	0.0014		0.0029	0.0013	0.0030	0.0033	0.0032
11. <i>Micromonospora</i> zamorensis [DSM 45600 LT607755]	0.0226	0.0285	0.0271	0.0056	0.0313	0.0070	0.0056	0.0125	0.0132	0.0132		0.0031	0.0012	0.0024	0.0021
12. <i>Micromonospora</i> violae [NEAU-zh8 KC161209]	0.0226	0.0251	0.0244	0.0126	0.0251	0.0105	0.0113	0.0021	0.0014	0.0028	0.0146		0.0032	0.0034	0.0034
13. <i>Micromonospora</i> zeae [NEAU-gg9 KC287242]	0.0234	0.0292	0.0292	0.0063	0.0320	0.0077	0.0063	0.0139	0.0146	0.0146	0.0021	0.0160		0.0025	0.0021
14. <i>Micromonospora</i> parathelypteridis [NEAU-JXY5 KU997023]	0.0251	0.0307	0.0307	0.0119	0.0334	0.0070	0.0099	0.0153	0.0160	0.0160	0.0090	0.0174	0.0097		0.0018
15. <i>Micromonospora</i> luteifusca [GUI2 FN658633]	0.0251	0.0259	0.0259	0.0091	0.0287	0.0077	0.0078	0.0154	0.0161	0.0161	0.0063	0.0175	0.0070	0.0049	



## Supplementary File 3

## BPM1 16S rRNA Forward

GCCGGGGGGTGCTTACACATGCAAGTCGAACGATGAAGCCTTTCCGGGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTG  
 CCCTTCACTCTGGGACAAGCCCTGGAACCGGGTCTAATACCGGATAACACTCTGTCCC GCATGGGACGGGGTTAAAGCTCCGGCGGTG  
 AAGGATGAGCCCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTATGGCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCC  
 ACATGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCGAGCTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGGCCG  
 CGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTTTTACGACGGGAAGAAGCGAAAGTGACGGTACTGCAAGAAGAAGCGCCGGTAAC  
 TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGCGGGCTTGTACAGTCTG  
 GATGTGAAAGCCCGGGCTTAAACCCGGGTCTGCATTGATACGGGGTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCG  
 GTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGAGC  
 GAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGTTGGGAAC TAGGTGTTGGCGACATCCACGTCGTGGTGGCCGACGTAACG  
 CATTAAAGTTCCTGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAAC TCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCAAGCAGCGGAGCATGTGGCT  
 TAATTCGACGCAACGCGAAGACCTTACCAAGGCTTGACATATCCGGAAGCATCAGAGATGTTGCCCTTGTGGTCCGGTATACAGTGG  
 TGCATGGCTGCTGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAGCGCAACCATTGTTCTGTGTTGACGATGCCTTCGG  
 GTGATGGGACTCACAGAACTCGGGTCACTCGAGAGTGGGACGACGTCAGTCATCATGGCGTTATGTTCTGGGCGTGCCACTGCTAC  
 ATTGGACTGATACATGACTTGCATGGCCAGGGCTGGACCGAATCA

## BPM1 16S rRNA Reverse

CGGGGGGCTCGTTGTTACGACTTCGTCCAATCGCCAGTCCCACCTTCGACAGCTCCCTCCCAAGGGGTTGGGCCACCGGCTTCGGGTG  
 TTACCGACTTTTCGTGACGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTACCGCAGCAATGCTGATCTGCGATTACTAGCAACTCC  
 GACTTCATGGGGTCGAGTTGCAGACCCCAATCCGAAGTGCAGACCGGCTTTTTGAGATTCTGCTCCGCTCGCGGCATCGCAGCTCATTGTAC  
 CGGCCATTGTAGCAGCTGTGCAGCCCAAGACATAAGGGGATGATGACTTGCAGCTGCTCCACCTTCCTCCGAGTTGACCCCGGAGCTCT  
 CCGTGTAGTCCCATCACCCTCCGGGTTGTAACCTCTTTTACGACGGGACGAGCTGGAATGTCGCTCGTTCGGGGACTTAACCAACATCTCACGAC  
 GAGCTGACGACAGCCATGCACCACCTGTATACCGACACAAGGGGGGACCATCTGTATGCTTTCCGGTATATGTCAAGCCTTGGTAAGG  
 TTCTTCGCGTTGCGTCGAATTAAGCCACATGCTCCGCTGCTTGTGCGGGCCCCGTC AATTCTTTGAGTTT TAGCCTTGGCGGCGTACTC  
 CCCAGCGGGGAACCTTAATGCGTTAGCTGCGGACCCGACGACGTCGGAATGTCGCAACACCTAGTTCCCAACGTTTACGGCTGGACTAC  
 CAGGGTATCTAATCTGTTGCTCCCGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTATGGCCAGAGATCCGCTTCGCCACCGGTGTTCTCTCC  
 TGATATCTGCGCATTTACCGCTACACCAAGAAATTCGCGATCTCCCGCTACCACTCTAGCTAGCCCGTATCGAATGCAGACCCGGGTTAA  
 AGCCCCGGGCTTTTACATCCGACGTGACAGCCCGCTAGCAGCTCTTTTACGCGCAATAATTCTGACACGCTGCGCCCTACGTATACCGC  
 GCTGCTGCCCGTAGTAGCGGCTTCTTTCTGCAGTACGTCATTTTCGCTCCTCCCTGCTGAAGAGTACAATCCGAGCCGTTTCATGCTT  
 CAGCGGCGTCTGCATAAGCCTTTTCGCCATTGGCCAAATT

## BPM2 16S rRNA Forward

GCAGGGCGCGTGCTACACATGCAGTCGAGCGGAAGGCCCTTCGGGGTACTCGAGCGGCGAACCGGGTGAAGTAAACGCTGAGCAACCTGC  
 CCCAAGCTTTGGGATAACCTCGGAACCGGGGCTAATACCGAATATTACTTCTGGCCGATGGCTGGTGGTGGAAAGTTTTTCGGCTTGG  
 GATGGGCTCGCGGCTATCAGCTTGTGGTGGGGTATGGCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACA  
 CTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCGAGCTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGGCCGCG  
 TGAGGGATGACGGCTTCGGGTTGTAACCTCTTTTACGACGGGACGAGCTGGAATGTCGCTGAGGAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGGGGAGCGAAC  
 CGCCAGCAGCCGCGTAAGACGTAGGGTGCAGCGTTGTCCGATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGGCGGCTTGTGCGTGCACCG  
 TGAACCTTTGGGGCTCAACTCCAAGCCTGCGGTGATACGGGAGGCTAGAGTTGCGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGA  
 AATGCGCAGATATCAGGAGGAACCCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGGGGAGCGAAC  
 AGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGTTGGGCGTAGGTGTGGGGGGCCTCTCCGGTTCCCTGTGCCGAGCTAACGCATTA  
 AGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAAC TCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCAAGCAGCGGAGCATCGGATTAATTC  
 GATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGGTTTACATGCGCGCAAAACTCGCAGAGATGTGAGGTCCTTTTCGGGGCGGTACAGGTGGTGA  
 TGGCTGTGCTGAGCTGCTGCTGAGATGTTGGATAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCTCGATGTTGACGCGGTTATGGCGGGGAC  
 TCATCGAGACTGCGGGTCACTCGGAGAGGTGGGATGACGTCAGTCATCATGCCCTTATGTTCAAGGCTTACCGCATGGCTACATGGATGC  
 ATCAATGGGCTTGCATAACCGTGAAGGGTGACCAATC

## BPM2 16S rRNA Reverse

TAGGCTTTGTTACGACTTCGTCCAATCGCCAGCCCCACCTTCGACGGCTCCCTCCCAAGGGTTGGGCCACCGGCTTCGGGTGTTGCCG  
 ACTTTCGTGACGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTACCGCAGCGTTGCTGATCTGCGATTACTAGCGACTCCGACTT  
 CACGGGCTCGAGTTGCAGACCCCGACTCGAAGTGCAGACCGGCTTTTGGGATTCGCTCCACCTCAGGATCCGACCCATTGTACCGGCC  
 ATTTAGCATCGTGAAGCCTGGACATAAGGGGCTGATGACTTGCAGCTATCCCACTTCTCCGGATTGACCCCGGAGCTTTCGAT  
 GAGTCCCCGCATAACCGCTGGCAACATCGAACGAGGTTGCTGCTCGTTCGGGGACTTAACCAACATCTCACGACAGAGCTGACGACA  
 GCCATGCACCACCTGTGACCGCCCCGGAAGGACCTCACATCTCTGGGATTTTGGCGGCATGTCAAACCCAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGC  
 ATCGAATTAATCCGATGCTCCGCGCTTGTGCGGGCCCCGCTCAATTCCTTTGAGTTT TAGCCTTGGCGGCTACTCCCAGGGGGCG  
 CTTAATGCTTAGCTGCGGCACAGGGAACCGGAGAGGCCCCCCACCTAGCTGACGCTGACGCTTACAGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATC  
 CTGTTGCTCCCCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAAGTCTCGGACAGCCGCTTCCGACCCGCTGTTCTCTGATATCTGCGCAT  
 TCACCGCTACACAGGAATCCAGTCTCCCTACCGAATCTAGCTGCCGATCGACCGCAGGCTGGAGTTGAGCCCAAGTTTTCAC  
 GGTGACGCGCAAGCGGCTACGAGCTCTTTTACGCGCAATAAATCCCGGACACGCTCGCACCCCTACGCTTACCGCGGCTGTCGGCAG  
 TAGTTGGCCGGTGTCTTCTTTCGAGGTACCGTCACTCTGCTTCTGCTCCTGCTGAAAGAGTTACACCCGAAGCGTCATCCCTCAGCGG  
 CGTCTGCTCATCAAGCTCCGCCAATTTGCCAAGATTCCACTGCTGCTTCCGTAGAGTCTTGGCCGGG

**BPM3 16S rRNA Forward**

GAGGGAGCTTACCATGCACTCGAGCGGAAGGCCCTTCGGGGTACTCGAGCGGCAACGGGTGAGTAACACGAGAGCAACCTGCCCA  
 AGCTTTGGGATAACCTCGGAAACGGGGCTAATACCGAATATTACTTCTGCGCCATGGCTGGTGGTGGAAAGTTTTTCGGCTTGGGA  
 TGGGCTCGCGGCTTACAGCTTGTGGTGGGGTATGGCTACCAAGGCGACGAGGGTAGCCGGCTGAGAGGGCGACCGGCCACAC  
 TGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCCG  
 TGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTCTTTCAGCAGGGACGAAGCGAGAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCACCGGCCA  
 ACGTGCCAGCAGCCGCGTAAGACGTAGGGTGCAGCGTTGCGAGCGTTGTCGGATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTGCGCTG  
 ACCGTGAAAATTTGGGGCTCAACCCAGCCTGCGGTGATACGGGACAGGCTAGAGTTCGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAG  
 CGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGG  
 AGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAACGTTGGGCGTAGGTGTGGGGGGCTCTCCGGTCCCTGTGCCGAGC  
 TAACGCATTAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGAAGCTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACAAGCGGGCGGAGCAT  
 CGGGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACATGGCCGCAAACTCACAGAGATGTGAGTCTTTGGGGCGGTC  
 ACAGGTGTGCATGCTGTGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGTAGTCCCGCACGAGCGCATCCCTCGATCGATGGTGACGCGGTATG  
 GCGGGACTCATCGAGACTGGCTGTTCACTCGAGAAGTGGGATGACGTCCAGTCATCATGCCCTTATGTCCAGCTCAGGCATGGCTAC  
 ATGCGGTCAATCGACTGCAATCCGCGAGGTGAACCGATTCCAAAAAGCGT

**BPM3 16S rRNA Reverse**

GTTGGGCTCTTGATTACGACTTCGTCCATCGCCAGCCCCACCTTCGACGGCTCCCTCCACAAGGGTTGGGCCACCGGCTTCGGGTGTTGC  
 CGACTTTCGTGACGTGACGGGGGTGTGTACAAGGCCGGGAACGTATTCACCGCAGCGTTCCTGATCTGCGATTACTAGCGACTCCGAC  
 TTCACGGGTGAGTTGCGAGACCCCGATCCGAACCTGAGACCGGCTTTTTGGGATTGCTCCACCTCGCGGTATCGCAGCCCAATTGTACCG  
 GCCATTGTAGCATGCGTGAAGCCCTGGACATAAGGGCATGATGACTTACGCTCATCCCACTTCTCCGAGTTGACCCGGCAGTCTTC  
 GATGAGTCCCGCCATAACCGCTGGCAACATCGAACGAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGAC  
 GACAGCCATGCAACCTGTGACCGCCCGGAAGGACCTCACATCTGTGAGTTTTGCGGCCATGTCAAACCAAGTAAAGTTCTTCGC  
 GTTGCATCGAATTAATCCGATGCTCCGCGCTTGTGCGGGCCCCGTCATTCTTTGAGTTTAGCCTTGGCGGCTACTCCCAGGGC  
 GGGCGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACAGGGAACCGGAGAGGGCCCCACCTAGCGCCCAACGTTTACAGCGTGGACTACCAGGGTAT  
 CTAATCCTGTTCCCTCCCGCAGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTATCGGCCAGAGACCCGCTTCCGACCCGGTGTCTCTCTGATATCTG  
 CGCATTCACCGCTACACAGGAATCCAGTCTCCCTACCGAACTTAGCTGCCCCGATCGACCGCAGGCTTGGGGTTAGCCCCAAGT  
 TTTACGGTGCAGCGACAAGCCGCTACGAGCTCTTTACGCCCAATAAATCCGGACAACGCTCGCACCTACGCTTACCCGCGGCTG  
 CTGGCACGTAGTTGGCCGGTCTTCTCTGCAAGTACCCTCACCTCGCTGCTCCCTGCTGAAAGAGGTTACACCGAGCCGTCATCCCT  
 CAGCGCGTGCCTGCATCAGTCCGGTCAATGTCCATATTCCTCCACTGCTGCTCCGGTAGGATCTGGCTGTCTCTCCAAGTCCCA

**BPM4 16S rRNA Forward**

GCATGGGCGGGTCTTACCATGCACTCGAGCGGAAGGCCCTTCGGGGTACTCGAGCGGCAACGGGTGAGTAACACGAGGACAC  
 TGCCCCGACTCTGGGATAAGCCCGGAAACAGGCTAATACCGGATACGACCATCTCTCTCGAGACGATGGTGGAAAGATTATCGG  
 TTTGGGATGGGCTCGCGGCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAAACGGCTACCAAGGCGACGACGGGTAACCGGCCTGAGAGGGCGACCG  
 GTCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCATGGGGAATATTGCGCAATGGGCGGAAGCCTGACGACGAC  
 GCCCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTCTTTCAGCAGGGACGAAGCGCAAGTACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGC  
 TAACACTGTGCCAGCAGCCGCGGTAACATCGTAGGGCGCAAGCGTTGTCGGAATATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTTGTGCGG  
 TCTGTCGTGAAAGCCAGCGTTAACCCTGGGTTCTGCGGTGATACGGGCAAGTACGAGGCAAGTACGAGGCAAGTAAAGGATGGAATCCCGTGT  
 AGCGGTGAAATGCGCAGATATCGGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGTTCTCTGGGCTGTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGG  
 GGAGGCAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCGGTAACGTTGGGCGTAGGTGTGGGGTCTTCCACGGATTCCGCGCCGTAGT  
 AAGCATTAAGCGCCCGCTTGGGGAGTACAGCCGCAAGGCTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCAAGCGCGGAGCATGT  
 TGCTAATTCGACGCAACGCAAGAACCTTACCAAGGCTTACATCGCCGAATCCATCAGAGATGGTGGGTCCTTTTTGGGCCGGTGC  
 AGGTGGTGCATGGCTGTGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGTCCATGTGCCAGCAG  
 TAATTTGGTGGGACTCATGGAGAAGCCGGGTTCACTCGAGATGGTGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCTGGACTGCA  
 ACATGCTAATGTGGGTTTACAGAAAGCCCTTGCCCAATTACTCGTTGAA

**BPM4 16S rRNA Reverse**

TCTGAGGGCAAATGTTTCGACTTCGTCCAATCGCCGGCCCCACCTTCGACCGCTCCCCCACAAAGGGTTGGGCCACGGGCTTCGGGTG  
 TTGCCGACTTTCGTGACGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCGGGAACGTATTCACCGCAGCGTTCCTGATCTGCGATTACTAGCGACT  
 CCGACTTCACGAAGTCGAGTTGCAGACTTCGATCCGAACCTGAGACCGGCTTTAAGGGATTGCTCCACCTCACGGTATCGCAGCCCTCTG  
 TACCGGCTATTGATGATGTTTGCAGCCCAAGACATAAGGGGCTGATGACTTACGCTCATCCCACTTCTCCGAGTTGACCCCGCGG  
 TCTCCATGAGTCCCACCTTACGCTGTGCAACATGGAACGAGGGTTGCGCTCGTTGCGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGC  
 TGACGACAGCCATGACCACTGTACCGGCCAAAAAGGACCCACATCTCTGATGGATTCCGGCGATGTCAAGCCTTGGTAAAGTTCT  
 TCGGTTGCGTCAATTAAGCAACATGCTCCGCGCTTGTGCGGGCCCCGCTCAATTCCTTTGAGTTTTAGCCTTGGCGGCTACTCCCA  
 GGCGGGCGCTTAATGCTGTTAGTACGGCGGGAATCCGTGGAAGGACCCACACCTAGCGCCCAACGTTTACGGCGTGGACTACAGGG  
 TATCTAATCTGTTGCTCCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTACAGGCCAGAGAACCCTTCCGACCCGGTGTCTCTCCGATATC  
 TGCGATTTACCGCTACCGGGAATCCATTCTCCCTACCTGCCTTAGTCTGCCGATATCCACCGCAGACCCAGGTTAAGCCGTGG  
 GCTTTCAGCAGACGCGACAACCGCTACGAGCTCTTACGCCAATAATTCCGGACACGCTTGCGCCCTACGATTACCGCGGCTGC  
 TGCCAGTAGTTAGCCCGGCTTCTTCTGCAAGTACCGTCACTTCTGCGCTGCTCCCTGCTGAAAGAGGTTACAACCGAAGGCGTCACTC  
 TCACCGGCGTCCGCTGCTCAGTTCGCGGACTGCGAATTTCCCACTGCTGCCTCCGTAGGAGTCTTGGATCGTTTTCAGTTCAGT  
 GTGACGGATGCCATCTCAAGGGCCGGTTACCCGATCGGTTCTGACCTG

**BPM5 16S rRNA Forward**

TTATAGGGTGCTTACCATGCAGTCGAGCGGAAGGCCCTTCGGGGTACTCGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGAGCAACCTGCCCC  
 AAGCTTTGGGATAACCTCGGAAACGGGGGCTAATACCGAATATTACTTCTGGCCGATGGCTGGTGGTGGAAAGTTTTTCGGCTTGGGA  
 TGGGCTCGCGGCTATCAGCTTGTGGTGGGGTATGGCCACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCCGGCCACT  
 GGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGAGCAGTGGGGAATATTGCACAAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCTG  
 AGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTCTTTCAGCAGGGACGAAGCGAGAGTACGGTACCTGCAGAAGAAGCACCGGCCAACTACGT  
 GCCAGCAGCCCGGTAAGACGTAGGGTGGAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGCGGCTTGTCCGGTCCGACCGT  
 GAAAACCTGGGGCTCAACTCCAAGCCTGCGGTGCATACGGGAGGCTAGAGTTCGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGA  
 AATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCGACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAAC  
 AGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCTGAAACGTTGGGCGTAGGTGTGGGGGGCCTCCTCCGGTCCCTGTGCCGAGCTAACGCATTA  
 AGCGCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGCGGGGAGCATGCGGATTAATC  
 GATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACATGGCCGCAAAAACCTGCAGAGATGTGAGGTCTTTTCGGGGGCGGTACAGGTGGT  
 GCATGGCTGTCGTGAGCTGTCGTGAGATGTTGGGGTAAGTCCCGCAACGAGCGCACCTCGTTTCGATGTGCAGCGCCTTATGGCGG  
 GGACTCATGAGACTCGGGTCACTCGGAGATGTGGGGATGACGTGAGTATCATGCCCTTATGTCAAGGCTCCAGCATGCTACATGGCG  
 GTACAGGTCTGCATACCGTCAGTGAGCGAATCCA

**BPM5 16S rRNA Reverse**

CCCTGGAGCTCTGTACGACTTCGTCCAATCGCCAGCCACCTTCGACGGCTCCCTCCACAAGGGTTGGGCCACCGCTTCGGGTGTT  
 GCCGACTTTTCGTGACGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTACCGCAGCGTTGCTGATCTGCGATTACTAGCGACTCCG  
 ACTTCACGGGGTCGAGTTGCAGACCCCGATCCGAACTGAGACCGGCTTTTTGGGATTCGCTCCACCTCACGGTATCGCAGCCATTGTAC  
 CGGCCATTGTAGCATGCGTGAAGCCCTGGACATAAGGGGATGATGACTTGACGTCATCCCACTTCTCCGAGTTGACCCGGCAGTCT  
 TCGATGAGTCCCCGCATAACGCGCTGGCAACATCGAACGAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAAACATCTCACGACACGAGCTG  
 ACGACAGCCATGCACCACTGTGACCGCCCGAAGGACCTCACATCTCTGCGAGTTTTGCGGCCATGTCAAACCCAGGTAAGGTTCTTC  
 GCGTTGCATGAATTAATCCGATGCTCCGCCGCTTGTGCGGGCCCCGTCGAATTCCTTTGAGTTTTAGCCTTGCGGCCGACTCCCCAGG  
 CGGGGCGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACAGGGAACCGGAGAGGCCCCCCACACTAGCGCCCAACGTTTACAGCGTGGACTACCAGGG  
 TATCTAATCCTGTTGCTCCCCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTATCGGCCAGAGACCCGCTTCGCCACCGGTGTTCTCCTGATA  
 TCTGCGCATTTACCCTACACAGGAATCCAGTCTCCCTACCGAATCTAGCCTGCCCGTATCGACCGCAGGCTTGGAGTTGAGCCC  
 CAAGTTTTACGGTGCAGCGCAAGCGCCTACGAGCTCTTTACGCCCAATAAATCCCGGACAACGCTCGCACCCCTACGCTTACCAGCGG  
 CTGCTGGGCACGGTAGTTGGGCGGTGCTTCTCTGACGTACGTCACCTCTCGCTTCTGCTGCTGAAAGAGGTTTACCACCCGACGCGGTGAT  
 CCTCAGCGCGTGCATCAGCTCGGCCAATGTGCATATCCACTGCTGCTTCTGTAGAATCTGGTGTGCTCTCAAGTCCA

**AUTHOR CONTRIBUTIONS**

FSG: Investigation, Methodology, Formal analysis, Writing review & editing. MD: Investigation, Formal analysis. GAA: Investigation, Methodology, Formal analysis, Writing review & editing. SA: Formal analysis. DK: Methodology, Investigation, Writing review & editing. ATO: Methodology, Formal analysis, Writing original draft & editing.

**ACKNOWLEDGMENTS**

The authors wish to thank Başkent University Head of Department Prof. Dr. Özlem Darcansoy İleri and all BU Molecular Biology and Genetics Department faculty members and assistants. We would also like to thank Hitit University Scientific Research Projects Coordinator for their support within the scope of the project numbered FBE19004.20.011.

## ETHICS COMMITTEE APPROVAL

\* This study does not require Ethics Committee Approval.

## CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

## REFERENCES

1. Desmond AU, Nicholas O, Emmanuel OO. Microbial forensics: Forensic relevance of the individual person's microbial signature. *Int J Life Sci Scienti Res*, eISSN, 2018:2455(1716), 1716.
2. Oliveira M, Amorim A. Microbial forensics: New breakthroughs and future prospects. *App Microbiol Biotech*, 102(24), 2018:10377-91.
3. MacCallum WG, Hastings TW. A case of acute endocarditis caused by *Micrococcus zymogenes* (nov. spec.), with a description of the microorganism. *J Exp Med*, 1899:4(5-6), 521-34.
4. Smith TF, Waterman MS. The continuing case of the Florida dentist. *Science*, 1992:256(5060), 1155-7.
5. Morgan RM, Levin EA. A crisis for the future of forensic science: lessons from the UK of the importance of epistemology for funding research and development. *Forensic Sci Int Synerg*, 2019:1, 243-52.
6. Richardson M, Gottel N, Gilbert JA, Lax S. Microbial similarity between students in a common dormitory environment reveals the forensic potential of individual microbial signatures. *MBio*, 2019:10(4), e01054-19.
7. Phan K, Barash M, Spindler X, Gunn P, Roux C. Retrieving forensic information about the donor through bacterial profiling. *Int J Leg Med*, 2020:134(1), 21-9.
8. Grantham NS, Reich BJ, Pacifici K, Laber EB, Menninger HL, Henley JB, et al. Fungi identify the geographic origin of dust samples. *PloS one*, 2015:10(4), e0122605.
9. Demanèche S, Schausser L, Dawson L, Franqueville L, Simonet P. Microbial soil community analyses for forensic science: application to a blind test. *For Sci Int*, 2017:270, 153-8.
10. Jose PA, Maharshi A, Jha B. Actinobacteria in natural products research: Progress and prospects. *Microbiol Res*, 2021, 126708.
11. Weyland Horst. Characteristics of actinomycetes isolated from marine sediments. *Zentralblatt fur Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. I. Abt.: Supplemente*. 1981.
12. William S, Feil H, Copeland A. Bacterial genomic DNA isolation using CTAB. *Sigma*, 2012, 50(6876).
13. Kim OS, Cho YJ, Lee K, Yoon SH, Kim M, Na H, et al. Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *Int J Sys Evol Mic*, 2012, 62(Pt\_3), 716-21.

14. Lane DJ. 16S/23S rRNA sequencing. In: *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*, Edited by E. Stackebrandt and M. Goodfellow. John Wiley and Sons, Chichester. 1991. pp. 115-48.
15. Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol*, 2018;35, 1547-9.
16. Jukes TH, Cantor CR. Evolution of Protein Molecules. In *Mammalian Protein Metabolism*, pp. 21-132. Ed: HN Munro. Academic Press, New York. 1969. pp. 21-132.
17. Saitou N, Nei M. The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees, *Mol Biol Evol*, 1987;4, 406-25.
18. Van Belkum ALEX. DNA fingerprinting of medically important microorganisms by use of PCR. *Clin Microbiol Rev*, 1994;7(2), 174-84.
19. Bruce RG, Dettmann ME. Palynological analyses of Australian surface soils and their potential in forensic science. *For Sci Int*, 1996;81(2-3), 77-94.
20. Bryant VM, Mildenhall DC. (1998). Forensic palynology: A New Way to Catch Crooks. *Contributions Series-American Association of Stratigraphic Palynologists*, 1998;33, 145-55.
21. Budowle B, Schutzer SE, Einseln A, Kelley LC, Walsh AC, Smith JA, et al. Building microbial forensics as a response to bioterrorism. *Science*, 2003;301(5641):1852-53.
22. Budowle B, Wilson MR, Burans JP, Breeze RG, Chakraborty R. Microbial forensics. In: *Microbial forensics*. Academic Press. 2005;pp.1-25.
23. Carter DO, Metcalf JL, Bibat A, Knight R. Seasonal variation of postmortem microbial communities. *Forensic Sci Med Pathol*, 2015;11(2), 202-7.
24. Peters RP, van Agtmael MA, Danner SA, Savelkoul PH, Vandenbroucke-Grauls CM. New developments in the diagnosis of bloodstream infections. *Lancet Infect Dis*, 2004;4(12), 751-60.
25. Santos A, van Aerle R, Barrientos L, Martinez-Urtaza J. Computational methods for 16S metabarcoding studies using Nanopore sequencing data. *Comp Struct Biotech J*, 2020;18, 296-305.
26. Wróblewski F, Ladue JS. Lactic dehydrogenase activity in blood. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1955;90(1), 210-3.
27. Finley SJ, Pechal JL, Benbow ME, Robertson BK, Javan GT. Microbial signatures of cadaver gravesoil during decomposition. *Microbial ecology*, 2016, 71(3), 524-9.
28. Delgado-Baquerizo M, Eldridge DJ, Hamonts K, Reich PB, Singh BK. Experimentally testing the species-habitat size relationship on soil bacteria: A proof of concept. *Soil Bio Biochem*, 2018;123, 200-6.
29. Trujillo ME, Riesco R, Benito P, Carro L. Endophytic actinobacteria and the interaction of *Micromonospora* and nitrogen fixing plants. *Front Microbiol*, 2015;6, 1341.
30. Kaltenpoth M. Actinobacteria as mutualists: general healthcare for insects? *Trend Microbiol*, 2009;17(12), 529-35.
31. Colquhoun JA, Heald SC, Li L, Tamaoka J, Kato C, Horikoshi K, et al. Taxonomy and biotransformation activities of some deep-sea actinomycetes. *Extremophiles*, 1998;2(3), 269-77.
32. Bull AT, Goodfellow M. Dark, rare and inspirational microbial matter in the extremobiosphere: 16 000 m of bioprospecting campaigns. *Microbiology*, 2019;165(12), 1252-64.
33. Sivakala KK, Gutiérrez-García K, Arul Jose P, Thinesh T, Anandham R, Barona-Gómez F, et al. Desert environments facilitate unique evolution of biosynthetic potential in *Streptomyces*. *Molecules*, 2021;26(3), 588.
34. Jose PA, Maharshi A, Jha B. Actinobacteria in natural products research: Progress and prospects. *Microbiol Res*, 2021;126708.
35. Sleator RD, Shortall C, Hill C. Metagenomics. *Lett App Microbiol*, 2008;47(5), 361-6.

36. Berglund EC, Kiialainen A, Syvänen AC. Next-generation sequencing technologies and applications for human genetic history and forensics. *Invest Gen*, 2011:2(1), 1-15.
37. Kuiper I. Microbial forensics: next-generation sequencing as catalyst: The use of new sequencing technologies to analyze whole microbial communities could become a powerful tool for forensic and criminal investigations. *EMBO reports*, 2016:17(8), 1085-7.
38. Capasso L, Vento G, Loddo C, Tirone C, Iavarone F, Raimondi F, et al. Oxidative stress and bronchopulmonary dysplasia: evidences from microbiomics, metabolomics, and proteomics. *Front Ped*, 2019:7, 30.
39. Gokdemir FS, Aras S. Chemotaxonomy in bacterial systematics. *Communications Faculty of Sciences University of Ankara Series C Biology*, 2019:28(1), 78-90.
40. Vandamme P, Pot B, Gillis M, De Vos P, Kersters K, Swings J. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol Rev*, 1996:60(2), 407-38.
41. Colwell RR. Polyphasic taxonomy of the genus *Vibrio*: numerical taxonomy of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, and related *Vibrio* species. *J Bacteriol*, 1970:104(1), 410-33.
42. Rosselló-Móra R. DNA-DNA Reassociation Methods Applied to Microbial Taxonomy and Their Critical Evaluation. In: *Molecular Identification, Systematics, and Population Structure of Prokaryotes*. 2006:pp. 23-50. Springer, Berlin, Heidelberg.
43. Broekhuijsen M, Larsson P, Johansson A, Byström M, Eriksson U, Larsson E, et al. Genome-wide DNA microarray analysis of *Francisella tularensis* strains demonstrates extensive genetic conservation within the species but identifies regions that are unique to the highly virulent *F. tularensis* subsp. *tularensis*. *J Clin Microbiol*, 2003:41(7), 2924-31.
44. Stackebrandt E, Goebel BM. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *Int J Syst Evol Microbiol*, 1994:44(4), 846-9.
45. Rossi-Tamisier M, Benamar S, Raoult D, Fournier PE. Cautionary tale of using 16S rRNA gene sequence similarity values in identification of human-associated bacterial species. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2015:65(Pt\_6), 1929-34.

## Eklem yakınmaları olan hastalarda Parvovirus B19 IgG ve IgM seropozitiflik düzeylerinin araştırılması

### Investigation of Parvovirus B19 IgG and IgM percentage of seropositivity in patients with joint complaints

Mürşit HASBEK<sup>1</sup> (ID), Fatih ÇUBUK<sup>1</sup> (ID)

#### ÖZET

**Amaç:** Parvovirus B19 çocuklarda Eritema Enfeksiyozum, kronik hemolitik anemili bireylerde geçici aplastik krizler, immünsüpre hastalarda kalıcı anemi ve hamilelerde hidrops fetalis gibi durumlara yol açabilmektedir. Hastalarda primer enfeksiyon nedeniyle veya Eritema Enfeksiyozum komplikasyonu olarak eklem yakınmaları görülebilmektedir. Parvovirus B19 ile enfekte bireylerde eklem yakınmalarının görülme sıklığı yaşa bağlı olarak değişebilmektedir. Enfekte çocukların %8'inde eklem yakınmaları görülürken; bu düzey yetişkinlerde %60-80'e çıkabilmektedir. Diğer yandan, Parvovirus B19 gibi viral nedenlerle gelişen eklem yakınmalarının yaygınlığı ile ilgili bilgilerin kısıtlı olduğu ve epidemiyolojik verilerin bölgesel farklılıklar gösterebildiği bildirilmektedir. Çalışmamızda hastanemize başvuran hastalarda Parvovirus B19 IgG ve IgM antikor varlığının araştırılması ve eklem yakınmaları olan hasta grubunda Parvovirus B19 seropozitiflik düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmada 2010-2019 yılları arasında Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen serum

#### ABSTRACT

**Objective:** Parvovirus B19 can cause conditions such as Erythema Infectiosum in children, transient aplastic crises in individuals with chronic hemolytic anemia, permanent anemia in immunosuppressed patients, and hydrops fetalis in pregnant women. Joint complaints may be seen in patients due to primary infection or as a complication of Erythema Infectiosum. The incidence of joint complaints in individuals infected with Parvovirus B19 may vary depending on age. While 8% of infected children have joint complaints; this percentage may increase to 60-80% in adults. On the other hand, it has been reported that information on the prevalence of joint complaints due to viral causes such as Parvovirus B19 is limited and epidemiological data may show regional differences. In our study, it was aimed to investigate the presence of Parvovirus B19 IgG and IgM antibodies in patients admitted to our hospital and to determine the percentages of Parvovirus B19 seropositivity in the patient group with joint complaints.

**Methods:** In the study, Parvovirus B19 IgG and IgM test results obtained from serum samples sent to the

<sup>1</sup>Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., Sivas



**İletişim / Corresponding Author :** Mürşit HASBEK

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., Sivas - Türkiye

**E-posta / E-mail :** mhasbek@hotmail.com

**Geliş Tarihi / Received :** 22.07.2022

**Kabul Tarihi / Accepted :** 29.11.2022

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.58908

Hasbek M, Çubuk F. Eklem yakınmaları olan hastalarda Parvovirus B19 IgG ve IgM seropozitiflik düzeylerinin araştırılması. Turk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(3): 309 - 316



örneklerinden elde edilen Parvovirus B19 IgG ve IgM test sonuçları geriye dönük olarak incelenmiştir.

**Bulgular:** Bu çalışmaya 437'si kadın (%64.4) ve 242'si erkek (%35.6) olmak üzere eklem yakınmaları olan toplam 679 hasta dahil edilmiştir. Bu hastaların 364'ünde (%53.6) Parvovirus B19 IgG test sonucu pozitif bulunmuştur. Parvovirus B19 IgG seropozitiflik düzeyi, eklem yakınmaları olan hastalarda (%53.6) eklem yakınması olmayan hastalara (%38.4) göre daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.0001$ ). Parvovirus B19 IgG seropozitiflik düzeyi, eklem yakınmaları olan çocuklarda %32.1 ve yetişkinlerde ise %62.3 tespit edilmiştir ( $p<0.0001$ ). Ayrıca, bu düzey eklem yakınmaları olan kadınlarda (%58.1) erkeklere (%45.5) göre daha yüksek bulunmuştur ( $p=0.002$ ). Diğer yandan, bu hastalar için Parvovirus B19 IgM seropozitiflik düzeyi %3.2 olarak belirlenmiştir. Bu düzey çocuklarda %1 ve yetişkinlerde ise %4.1 tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Özellikle eklem yakınmaları olan erişkin hastalar için Parvovirus B19'a bağlı bir primer enfeksiyon veya komplikasyon olasılığı akılda tutulmalıdır. Bu hasta grubunda Parvovirus B19'a yönelik serolojik test (IgG-IgM) sonuçlarının ayırıcı tanıya katkı sunacağını düşünüyoruz.

**Anahtar Kelimeler:** Parvovirus B19, seropozitiflik, eklem

Medical Microbiology Laboratory between 2010-2019 were retrospectively analyzed.

**Results:** A total of 679 patients with joint complaints, including 437 women (64.4%) and 242 men (35.6%), were included in this study. Parvovirus B19 IgG test result was positive in 364 (53.6%) of these patients. Parvovirus B19 IgG seropositivity percentage was found to be higher in patients with joint complaints (53.6%) than in patients without joint complaints (38.4%) ( $p<0.0001$ ). Parvovirus B19 IgG seropositivity percentage was 32.1% in children with joint complaints and 62.3% in adults ( $p<0.0001$ ). In addition, this percentage was found to be higher in women (58.1%) with joint complaints compared to men (45.5%) ( $p=0.002$ ). On the other hand, the Parvovirus B19 IgM seropositivity percentage was determined as 3.2% for these patients. This percentage was 1% in children and 4.1% in adults.

**Conclusion:** In particular, the possibility of a primary infection or complication due to Parvovirus B19 should be kept in mind for adult patients with joint complaints. We think that the results of the serological test (IgG-IgM) for Parvovirus B19 in this patient group will contribute to the differential diagnosis.

**Key Words:** Parvovirus B19, seropositivity, joint

## GİRİŞ

Parvoviridae ailesi tek sarmal DNA genomuna sahip olan ve ikozahedral simetrik kapsid bulunduran zarfsız virüslardır (1). Parvovirus B19 damlacık yolu ile bulaş başta olmak üzere kan ve kan ürünleri transferi yada transplasental yol gibi çeşitli şekillerde bulaşabilmektedir (1). Bulaş sonrası viremi gösteren virus eritrosit yüzeyindeki P antijenlerine bağlanarak, başta kemik iliğinde ve fetal karaciğerde eritroid öncü hücrelerini enfekte etmektedir (2).

Parvovirus B19 çocukluk çağında Eritema Enfeksiyozum (Beşinci hastalık) adı verilen döküntülü hastalık, kronik hemolitik anemili bireylerde geçici aplastik krizler, bağışıklığı baskılanmış kişilerde kalıcı anemi ve hamilelerde hidrops fetalis gibi klinik durumlara yol açabilmektedir (1,3). Hastalarda primer enfeksiyon nedeniyle veya Eritema Enfeksiyozumun bir komplikasyonu olarak eklem ile ilgili yakınmalar oluşabilmektedir (1,4).

Parvovirus B19 enfeksiyonu tüm dünyada yaygın olarak görülmekte olup yetişkin bireylerin %50-70'inde

bu virusa karşı spesifik antikorlar tespit edilmektedir (1). Diğer yandan, Parvovirus B19 prevalansının önemli coğrafi farklılıklar gösterdiği bilinmektedir (3). Uzak Doğu ülkelerinde ve Afrika ülkelerinde Batı Dünyasına göre daha düşük seropozitiflik düzeyleri bildirilmektedir (1).

Parvovirus B19 ile enfekte bireylerde eklem yakınmalarının görülme sıklığı yaşa bağlı olarak değişebilmektedir (3,4). Enfekte çocukların %8'inde eklem yakınmaları görülürken; bu düzey yetişkinlerde %60-80'e çıkabilmektedir (3,4). Bununla birlikte, Parvovirus B19 gibi viral nedenlerle gelişen eklem yakınmalarının yaygınlığı ve görülme sıklığı ile ilgili bilgilerin kısıtlı olduğu ve epidemiyolojik verilerin bölgesel farklılıklar gösterebildiği bildirilmektedir (4).

Çalışmamızda hastanemize başvuran hastalarda Parvovirus B19 IgG ve IgM antikor varlığının araştırılması ve eklem yakınmaları olan hasta grubunda Parvovirus B19 IgG ve IgM seropozitiflik düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız üçüncü basamak eğitim ve araştırma hastanesi olan Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi'nde yapılmıştır. Çalışmada, 2010-2019 yıllarını kapsayan on yıllık dönemde, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen kan örneklerinden elde edilen Parvovirus B19 enfeksiyonun tanısında kullanılan seroloji test sonuçları (Parvovirus B19 IgG-IgM) laboratuvar bilgi sisteminden geriye dönük olarak incelenmiştir. Çalışmamızda, Parvovirus B19 IgG-IgM antikor testi istemi yapılan hastalar için hastane otomasyon sistemi kayıtları ve hasta dosyaları retrospektif olarak incelenerek, başvuru anında eklem yakınmaları olan bireyler tespit edilmiştir.

Hastalardan alınan 3-5 ml kan örneği, laboratuvarında santrifüj işlemi ile serumlarına ayrıştırılarak en geç iki saat içinde serumda antikorların tespiti için, Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi

kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda Triturus (Grifols, İspanya) cihazında Parvovirus ELISA IgG ve Parvovirus ELISA IgM Capture (Vircell, İspanya) marka test kitleri kullanılarak analiz edilmiştir. Lipemik ve hemolizli serumlar çalışmaya alınmamıştır. Araştırmada, aynı hastaların yinelenen test sonuçları çalışmaya dahil edilmemiştir.

Araştırmanın istatistiksel analizi IBM-SPSS 23.0 (IBM Co., ABD) programı ile yapılmıştır. Sayısal değişkenler frekans (yüzdeler) olarak verilmiştir. Verilerin değerlendirmesinde ki-kare testi kullanılmış ve  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Bu çalışma, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirilmiştir (Tarih: 10.02.2021, Karar no: 2021-02/05).

## BULGULAR

Çalışmaya 3.374 (%47.4)'ü kadın ve 3.745 (%52.6)'i erkek olmak üzere toplam 7.119 hasta dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastaların 2.840'ında (%39.9) Parvovirus B19 IgG test sonucunun pozitif olduğu belirlenmiştir. Bu düzey, çocuklarda %21.7 ve yetişkin hastalarda ise %60.5 olarak bulunmuştur ( $p < 0.0001$ ). Ayrıca, çalışmamızda kadınlarda (%43.2) erkek cinsiyete (%36.9) daha yüksek bir Parvovirus B19 IgG seropozitiflik düzeyi tespit edilmiştir ( $p < 0.0001$ ) (Tablo 1).

Çalışmaya dahil edilen hastaların 284 tanesinde (%4) Parvovirus B19 IgM test sonucu pozitif bulunmuştur. Bu düzey, çocuklarda %4.8 ve yetişkinlerde ise %3.1 tespit edilmiştir (Tablo 2).

Çalışmamızda eklem ile ilgili yakınmaları olan 437 (%64.4)'si kadın ve 242 (%35.6)'si erkek olmak üzere toplam 679 hastaya ait Parvovirus B19 IgG ve IgM test sonucu irdelenmiştir. Eklem yakınmaları olan hastaların 364 (%53.6)'ünde Parvovirus B19 IgG test sonucu pozitif bulunmuştur. Bu düzey, eklem yakınmaları olan çocuklarda %32.1 ve yetişkinlerde ise %62.3 olarak tespit edilmiştir ( $p < 0.0001$ ). Ayrıca, bu çalışmada eklem yakınmaları olan kadınlar için

(%58.1) erkek cinsiyete (%45.5) göre daha yüksek bir Parvovirus B19 IgG seropozitiflik düzeyi bulunmuştur ( $p=0.002$ ) (Tablo 3).

Eklem yakınmaları olan hastalar için Parvovirus B19 IgM seropozitiflik düzeyi %3.2 olarak bulunmuştur. Bu düzey çocuklarda %1 ve yetişkinlerde ise %4.1 tespit edilmiştir (Tablo 4).

Çalışmamızda, eklem ile ilgili yakınmaları olan hastalar için (%53.6) diğer hastalara (%38.4) (2476/6440) kıyasla daha yüksek bir Parvovirus B19 IgG seropozitiflik düzeyi olduğu değerlendirilmiştir ( $p<0.0001$ ). Diğer yandan, Parvovirus B19 IgM seropozitiflik düzeyi için hasta grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır ( $p=0.294$ ) (Şekil 1).

**Tablo 1.** Parvovirus B19 IgG seropozitiflik düzeyinin yaş ve cinsiyet gruplarına göre dağılımı

Yaş grubu	Kadın	Erkek	Toplam	$p^*$
	%			
	(IgG test sonucu pozitif hasta sayısı / Toplam sayı)			
0-18 yaş	22.1 (364/1.647)	21.4 (455/2.131)	21.7 (819/3.778)	0.579
19 yaş ve üstü	63.3 (1.094/1.727)	57.4 (927/1.614)	60.5 (2.021/3.341)	0.0005
Toplam	43.2 (1.458/3.374)	36.9 (1.382/3.745)	39.9 (2.840/7.119)	<0.0001

$p^*$  değeri ait olduğu sütundaki yaş aralıklarında olan kadınlar ve erkekler arasında kıyaslamalara aittir.

**Tablo 2.** Parvovirus B19 IgM seropozitiflik düzeyinin yaş ve cinsiyet gruplarına göre dağılımı

Yaş grubu	Kadın	Erkek	Tümü	$p^*$
	%			
	(IgM test sonucu pozitif hasta sayısı/ Toplam sayı)			
0-18 yaş	5.2 (85/1.647)	4.5 (96/2.131)	4.8 (181/3.778)	0.349
19 yaş ve üstü	2.8 (48/1.727)	3.4 (55/1.614)	3.1 (103/3.341)	0.342
Toplam	3.9 (133/3.374)	4.0 (151/3.745)	4.0 (284/7.119)	0.846

$p^*$  değeri ait olduğu sütundaki yaş aralıklarında olan kadınlar ve erkekler arasında kıyaslamalara aittir.

**Tablo 3.** Eklem yakınmaları olan hastalarda Parvovirus B19 IgG seropozitiflik düzeyinin yaş ve cinsiyet gruplarına göre dağılımı

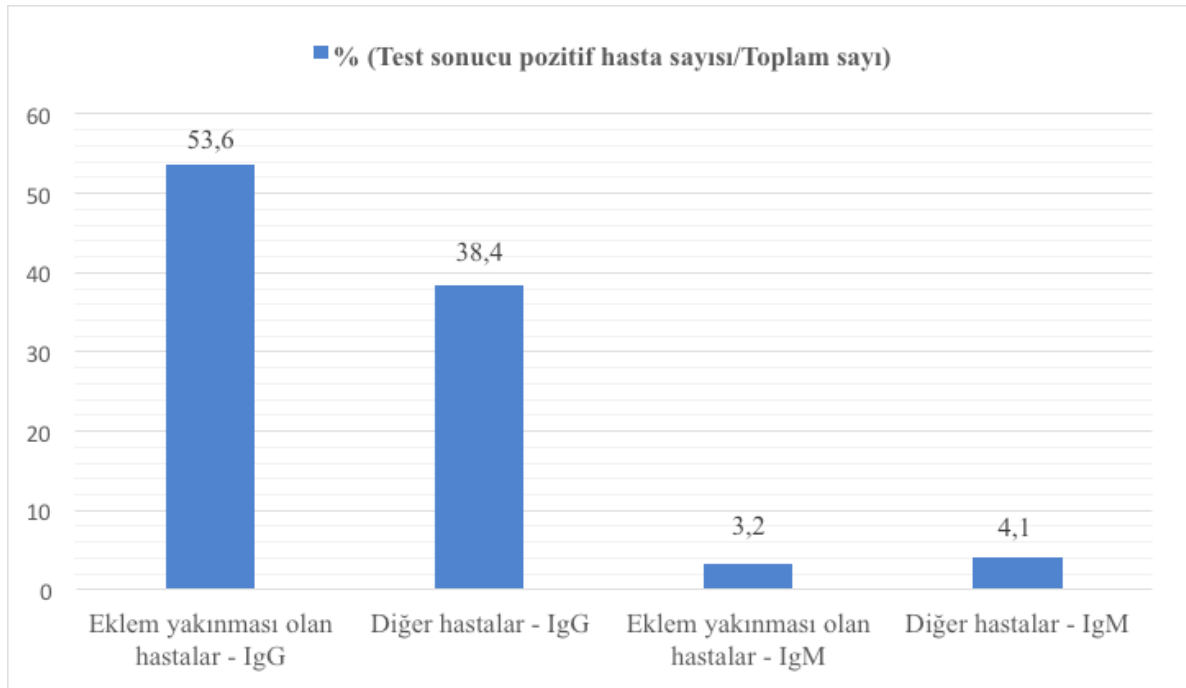
Yaş grubu	Kadın	Erkek	Tümü	$p^*$
	%			
	(IgG test sonucu pozitif hasta sayısı/ Toplam sayı)			
0-18 yaş	34.4 (33/96)	30.0 (30/100)	32.1 (63/196)	0.512
19 yaş ve üstü	64.8 (221/341)	56.3 (80/142)	62.3 (301/483)	0.08
Toplam	58.1 (254/437)	45.5 (110/242)	53.6 (364/679)	0.002

$p^*$  değeri ait olduğu sütundaki yaş aralıklarında olan kadınlar ve erkekler arasında kıyaslamalara aittir.

Tablo 4. Eklem yakınmaları olan hastalarda *Parvovirus B19* IgM seropozitiflik düzeyinin yaş ve cinsiyet gruplarına göre dağılımı

Yaş grubu	Kadın	Erkek	Tümü	p*
% (IgM test sonucu pozitif hasta sayısı/toplam sayısı)				
0-18 yaş	1.0 (1/96)	1.0 (1/100)	1.0 (2/196)	0.976
19 yaş ve üstü	3.2 (11/341)	6.3 (9/142)	4.1 (20/483)	0.189
Toplam	2.7 (12/437)	4.1 (10/242)	3.2 (22/679)	0.328

p\* değeri ait olduğu sütundaki yaş aralıklarında olan kadınlar ve erkekler arasında kıyaslamalara aittir.



Şekil 1. Eklem yakınmaları olan hastalar ile diğer hastalar açısından *Parvovirus B19* IgG ve IgM seropozitiflik düzeylerinin karşılaştırılması

## TARTIŞMA

Parvovirus B19 enfeksiyonu tüm dünyada yaygın olarak görülmekte olup, yetişkinlerin %50-70'inde bu virusa spesifik antikörler tespit edilmektedir (1). Bununla birlikte, Parvovirus B19 prevalansı coğrafi

farklılıklar gösterebilmektedir (3). Uzak Doğu ülkelerinde ve Afrika'da Batı Dünyasına göre daha düşük seropozitiflik düzeyleri bildirilmektedir (1).

Yakın zamanda gerçekleştirilen bir metaanaliz çalışmasında Çin'in farklı bölgelerinde Parvovirus B19 IgG ve IgM seropozitiflik düzeyleri sırası ile %28-39 ve

%2-4 seviyesinde bildirilmiştir (5). Benzer şekilde, İran'da 2018 yılında yapılan bir çalışmada Parvovirus B19 IgG ve IgM seropozitiflik düzeyleri sırasıyla %27.6 ve %2.6 olarak bulunmuştur (6). Ülkemizde gerçekleştirilen çalışmalarda ise Parvovirus B19 IgG ve IgM seropozitiflik düzeyleri %29-60 ve %1-9 seviyesinde bildirilmektedir (7-10). Bizim çalışmamızda da IgG ve IgM seropozitiflik düzeyleri %39.9 ve %4 bulunmuştur. Ülkemizde yapılan çalışmalarda elde edilen verilerinin Çin'deki ve İran'daki çalışmalar ile uyum gösterdiği söylenebilir.

Çalışmamızda kadınlarda (%43.2) erkeklere (%36.9) göre daha yüksek bir Parvovirus B19 IgG seropozitifliği tespit edilmiştir ( $p<0.0001$ ). Benzer şekilde, yetişkin yaş grubu için kadınlarda (%63.3) erkeklere (%57.4) kıyasla daha yüksek bir IgG seropozitifliği belirlenmiştir ( $p=0.0005$ ). Bununla birlikte, çalışmamızda Parvovirus B19 IgG seropozitifliği için çocuklarda cinsiyet açısından anlamlı fark bulunmamıştır.

Ülkemizde yapılan kimi araştırmalarda, çalışmamıza benzer şekilde Parvovirus B19 IgG seropozitiflik düzeyi kadınlarda erkeklere göre daha yüksek bildirilmektedir (7,9). Röhrer ve arkadaşları Almanya'da 2008 yılında gerçekleştirdikleri çalışmada, benzer şekilde kadınlarda (%73.4) erkeklere (%70.8) kıyasla daha yüksek bir IgG seropozitifliği bildirmiştir (11). Diğer yandan, Türk Dağı ve arkadaşları tarafından 2010 yılında Konya'da yapılan çalışmada Parvovirus B19 IgG seropozitifliği açısından kadın (%28.8) ve erkek (%28.9) cinsiyet için birbirine yakın düzeyler tespit edilmiştir (8).

Röhrer ve arkadaşları, kadınlarda daha yüksek bir IgG seropozitifliği görülmesini çocuk bakımının genellikle kadınlar tarafından üstlenilmesi ve genç kızların erkeklere kıyasla küçük kardeşleri ve diğer çocuklar ile daha sık ve yakın temas etmesi gibi nedenlere bağlı olabileceğini ifade etmiştir (11). Parvovirus B19 epidemiyolojisinin böylesi sosyokültürel durumlardan etkilenmesi mümkün olabilir. Öte yandan, Türk Dağı ve arkadaşlarının çalışmasında cinsiyetler arasında fark bulunmamıştır

(8). Parvovirus B19 seroprevalansı ile cinsiyet grupları arasındaki ilişkiyi irdeleyen daha kapsamlı çalışmalar yapılmasının literatüre katkı vereceğini düşünüyoruz.

Parvovirus B19 ile enfekte hastalarda primer enfeksiyon veya Eritema Enfeksiyozum komplikasyonu olarak eklem yakınmaları olabilmektedir (1,3,4). Enfekte çocukların yaklaşık %8'inde eklem yakınmaları görülürken; bu düzey yetişkinlerde %50-80'e çıkabilmektedir (4). Eklem yakınmalarının, özellikle yetişkin yaş grubundaki kadınlarda daha sık görüldüğü bildirilmektedir (1,3).

Çalışmamıza eklem yakınmaları olan 437'si (%64.4) kadın ve 242'si (%35.6) erkek toplam 679 hasta dahil edilmiş olup, bu hastaların 364'ünde (%53.6) Parvovirus B19 IgG test sonucu pozitif belirlenmiştir. Eklem yakınması hastalar için (%53.6) Parvovirus B19 IgG seropozitiflik düzeyi, eklem yakınması olmayan hastalara (%38.4) göre daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.0001$ ) (Şekil 1). Parvovirus B19 IgG seropozitiflik düzeyi eklem yakınması olan çocuklarda %32.1 ve yetişkinlerde ise %62.3 bulunmuştur ( $p<0.0001$ ). Ayrıca, çalışmamızda eklem yakınması olan kadınlarda (%58.1) erkeklere göre (%45.5) göre daha yüksek bir IgG seropozitifliği tespit edilmiştir ( $p=0.002$ ).

Varache ve arkadaşları tarafından 2011 yılında Fransa'da yapılan bir çalışmada, eklem yakınmaları olan 18-70 yaş aralığındaki toplam 806 hastanın 574'ünde (%71.2) IgG ve dokuz hastada (%1.1) ise IgM test sonucu pozitif bildirilmiştir (12). Ancak, araştırmacılar bu çalışmada Parvovirus B19 IgG ve IgM seroprevalansı ile hasta cinsiyeti arasında ilişki olup olmadığını irdelememiştir. Ülkemizde yakın zamanda gerçekleştirilen bir çalışmada ise eklem yakınmaları olan toplam 61 yetişkin hastanın 40'ında (%65.6) IgG ve ikisinde (%3.3) ise IgM test sonucu pozitif bildirmiştir (13). Ayrıca, bu çalışmada sırasıyla Parvovirus B19 IgG seropozitiflik düzeyi kadınlarda %72 ve erkeklerde %59; IgM seropozitiflik düzeyi ise kadınlarda %0 ve erkeklerde %6 olarak bildirilmiştir (13).

Bizim çalışmamızda, Türkmen Albayrak ve

arkadaşlarının (13) çalışmasına benzer şekilde, yetişkin hastalar için Parvovirus B19 IgG seropozitiflik düzeyi eklem yakınmaları olan kadınlarda (%64.8) erkeklere (%56.3) daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, çalışmamızda yetişkin yaş grubunda, Parvovirus B19 IgM seropozitiflik düzeyi eklem yakınmaları olan erkeklerde (%6.3) ve kadınlarda (%3.2) tespit edilmiştir ( $p=0.189$ ).

Çalışmamızda eklem yakınmaları olan çocukların 63'ünün (%32.1) Parvovirus B19 IgG ve ikisinin (%1) IgM test sonucu pozitif bulunmuştur. Çocuk yaş grubu için, Parvovirus B19 IgG seropozitiflik düzeyi eklem yakınmaları olan kızlarda (%34.4), erkeklerde (%30) bulunmuştur. Ayrıca çalışmamızda eklem yakınması olan birer kız (%1) ve erkek (%1) çocukta Parvovirus B19 IgM test sonucu pozitif saptanmıştır.

Aktaş ve arkadaşları tarafından 2016 yılında yapılan çalışmada, Dünya Sağlık Örgütü tarafından önerilen uluslararası hastalık sınıflandırma (ICD-10) kodları (14) kullanılarak, farklı hasta gruplarında Parvovirus B19 seroprevalansı araştırılmıştır (9). Bu çalışmaya dahil edilen hastaların 1.115 (%90)'i 0-17 yaş aralığında yer almaktadır. Araştırmacılar, bu çalışmada ICD-10 kodları ile yapılan sınıflandırmada kas iskelet sistemi ile ilgili şikayetleri olan 59 hastanın 33 (%55.9)'ünde IgG ve altısında (%10.2)'sında IgM test sonucunun pozitif olduğunu bildirmiştir.

Aktaş ve arkadaşlarının çalışmasında kas iskelet sistemi ile ilgili şikayetleri olan çocuklarda (%55.9)

bizim çalışmamıza (%32.1) göre daha yüksek Parvovirus B19 IgG seropozitiflik düzeyi bildirilmiştir (9). Aktaş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya dahil edilen 18 Romatoid Artrit tanılı hastadan 13 (%72.2)'ünde Parvovirus B19 IgG test sonucu pozitif bulunmuştur (9). Romatoid Artrit tanılı hastaların kas iskelet sistemi ile ilgili şikayetleri olan hastalar içerisinde sınıflandırılması, Aktaş ve arkadaşlarının çalışmasında yüksek Parvovirus B19 IgG seropozitiflik düzeyi belirlenmesine neden olmuş olabilir.

Çalışmanın kısıtlılıkları: Çalışma retrospektif özelliktedir. Çalışmamızda pozitif Parvovirus B19 IgM test sonuna sahip hasta verilerine yeterince ulaşamamıştır. Bu nedenle, pozitif Parvovirus B19 IgM test sonuçlarının akut Parvovirus B19 enfeksiyonu yanı sıra diğer viral enfeksiyonlara bağlı olası çapraz reaksiyona bağlı olup olmadığı değerlendirilememiştir.

Çalışmamızda eklem yakınmaları olan yetişkinlerde çocuklara göre daha yüksek bir Parvovirus B19 IgG seropozitiflik düzeyi bulunmuştur. Benzer şekilde, çalışmamızda bu düzey eklem yakınmalarına sahip kadınlarda erkeklere kıyasla daha yüksek tespit edilmiştir.

Özellikle eklem yakınmaları olan erişkin hastalar için Parvovirus B19'a bağlı bir primer enfeksiyon veya komplikasyon olasılığı akılda tutulmalıdır. Bu hasta grubunda Parvovirus B19'a yönelik serolojik test sonuçlarının ayırıcı tanı için katkı verici olacağını düşünüyoruz.

**ETİK KURUL ONAYI**

\* Bu çalışma, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 10.02.2021, Karar no: 2021-02/05).

**ÇIKAR ÇATIŞMASI**

Hazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**KAYNAKLAR**

1. Qiu J, Söderlund-Venermo M, Young NS. Human Parvovirus. *Clin Microbiol Rev*, 2017; 30(1): 43-113.
2. Pinto NC, Newman C, Gomez CA. Parvovirus B19-induced severe anemia in heart transplant recipients: Case report and review of the literature. *Clin Transplant*, 2019; 33(4): e13498.
3. Rogo LD, Mokhtari-Azad T, Kabir MH, Rezaei F. Human parvovirus B19: a review. *Acta Virol*, 2014; 58(3): 199-213.
4. Marks M, Marks JL. Viral arthritis. *Clin Med (Lond)*, 2016; 16(2): 129-34.
5. Li X, Lin Z, Liu J. Overall prevalence of human parvovirus B19 among blood donors in mainland China: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*, 2020; 99(17): e19832.
6. Zadsar M, Aghakhani A, Banifazl M. Seroprevalence, molecular epidemiology and quantitation of parvovirus B19 DNA levels in Iranian blood donors. *J Med Virol*, 2018; 90(8): 1318-22.
7. Göral Ş, Yenicesu İ, Bozdayı G, Duyan Çamurdan A, Altay Koçak A. Parvovirus B19 seroprevalence in Turkish blood donors. *Turk J Med Sci*, 2018; 48(5): 956-60.
8. Türk Dağı H, Özdemir M, Baykan M, Baysal B. Investigation of parvovirus B19 seroprevalence in various age groups in Central Anatolia Region, Turkey. *Mikrobiyol Bul*, 2010; 44(3): 467-72.
9. Aktaş O, Aydın H, Uslu H. Serological prevalence of human parvovirus B19 in diseases or disorders related to different human body systems. *Turk J Med Sci*, 2016; 46(2): 368-73.
10. Uskudar Guclu A, Yilmaz S, Baysallar M, Avcı İY. Prevalence and Quantity of Parvovirus B19 DNA Among Blood Donors from a Regional Blood Center in Turkey. *Transfus Apher Sci*, 2020; 59(4): 102775.
11. Röhrer C, Gärtner B, Sauerbrei A. Seroprevalence of parvovirus B19 in the German population. *Epidemiol Infect*, 2008; 136(11): 1564-75.
12. Varache S, Narbonne V, Jousse-Joulin S. Is routine viral screening useful in patients with recent-onset polyarthritis of a duration of at least 6 weeks? Results from a nationwide longitudinal prospective cohort study. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2011; 63(11): 1565-70.
13. Türkmen Albayrak H, Bakır A, Güney M, Yavuz MT. Investigation into Parvovirus B19 Antibodies in Serum Samples Sent with Pre-diagnosis of Arthritis-Arthralgia. *Anatol J Fm*, 2020; 3(1): 40-4.
14. Krawczyk P, Świącicki Ł. ICD-11 vs. ICD-10 - a review of updates and novelties introduced in the latest version of the WHO International Classification of Diseases. *Psychiatr Pol*, 2020; 54(1): 7-20.



# Süperoksidge su içeren el antiseptiğinin etkinliğinin araştırılması

## Investigation of the effectiveness of hand antiseptic containing superoxidized water

Elif AYDIN<sup>1</sup> (ID), Emirhan BOZOĞLAN<sup>1</sup> (ID), Sinan DARCAN<sup>2</sup> (ID), Duygu PERÇİN RENDERS<sup>3</sup> (ID)

### ÖZET

**Amaç:** Pandemi ile beraber antiseptik ürün ihtiyacının artması, bilim insanlarını daha etkin yeni formülasyonların geliştirilmesi üzerine çalışmalara yönlendirmiştir. Yeni üretilen antiseptik solüsyonlarının içerik ve etkinlik bakımından standartlara göre değerlendirilmesi önem arz etmektedir. Çalışmamızda süperoksidge su içerikli bir antiseptik ürününün, TSE EN 1500 standardının referans aldığı %60 izopropil alkol formülasyonu ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmamızda süperoksidge su içerikli bir antiseptik ürününün antimikrobiyal aktivitesi %60 izopropil alkol ile karşılaştırılarak incelenmiştir. Bunun için toplam 20 gönüllü çalışmaya dahil edilmiş olup iki ayrı grup olarak çalışmaya alınmışlardır. Test bakterisi olarak standart *Escherichia coli* (ATCC) suşu kullanılmıştır. Birinci grupta antiseptik solüsyon 30 sn, ikinci grupta ise hem antiseptik solüsyon hem de %60 izopropil alkol kontamine ellere 2 kez 30 ml uygulandıktan sonra numune alınmıştır. Triptik Soy Agar (TSA) besiyerleri 37°C de 18±4 saat süre ile inkübe edildikten sonra koloni sayma yöntemi ile tüm koloniler sayılmıştır.

### ABSTRACT

**Objective:** The increase in the need for antiseptic products with the pandemic has led scientists to work on the development of more effective new formulations. It is important to evaluate the newly produced antiseptic solutions according to the standards in terms of content and effectiveness. In our study, it is aimed to compare an antiseptic product with superoxidized water content according to the 60% isopropyl alcohol formulation referenced by the TSE EN 1500 standard.

**Methods:** In our study, the antimicrobial activity of an antiseptic product with superoxidized water content was investigated by comparing it with 60% isopropyl alcohol. For this purpose, a total of 20 volunteers were included in the study and were separated into two separate groups. Standard *Escherichia coli* ATCC strain was used as test bacteria. In the first group, the sample was taken after applying 30 ml of antiseptic solution to the contaminated hands for 30 seconds, in the second group, both antiseptic solution and 60% isopropyl alcohol were applied twice. After incubation of Triptone Soya Agar (TSA) media at 37°C for 18±4 hours, all colonies were counted using the colony counting method.

<sup>1</sup>Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tavşanlı Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Dezenfeksiyon Sterilizasyon Antisepsi Programı, Tavşanlı, Kütahya

<sup>2</sup>Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gediz Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Tıbbi Dokümantasyon ve Sekreterlik Programı, Gediz, Kütahya

<sup>3</sup>Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD Kütahya



**İletişim / Corresponding Author : Elif AYDIN**

Yeni Mah. Şehit Gaffar Okan Cd. No 2, Tavşanlı, Kütahya - Türkiye

E-posta / E-mail : elif.aydin@ksbu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 27.05.2022

Kabul Tarihi / Accepted : 08.05.2023

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.68335

Aydın E, Bozoğlan E, Darcan S, Perçin Renders D. Süperoksidge su içeren el antiseptiğinin etkinliğinin araştırılması. Türk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(3): 317 - 322

**Bulgular:** İlk kontaminasyona göre %60 izopropil alkol sonrası A ve B grubu gönüllülerde sırasıyla 3.7 ile 3.8, süperoksidize su içerikli antiseptik ürününde ise 3.1 ile 3.4 logaritmik azalma tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Süperoksidize su içeren antiseptikle standart izopropil alkole göre kıyaslanabilir logaritmik azalma tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Antiseptik, dezenfektan, dezenfeksiyon, etkinlik, süperoksidize su

**Results:** The logarithmic reduction rates obtained with both antiseptics according to the initial contamination are shown in the table.

**Conclusion:** A comparable logarithmic reduction was detected with the antiseptic containing superoxidized water compared to standard isopropyl alcohol.

**Key Words:** Antiseptic, disinfectant, disinfection, effectiveness, superoxidized water

## GİRİŞ

El hijyeni; mikroorganizmaları ellerden uzaklaştırma ve başkalarına bulaştırılmasının engellenmesine yönelik yapılan, el yıkama, antiseptiklerle el yıkama, antiseptiklerle ellerin ovulması veya cerrahi el antisepsisi için kullanılan genel bir terimdir. Küresel olarak, hastane ilişkili enfeksiyonların (HİE) prevalansı gelişmiş ülkelerde % 4 ile %10 arasında değişmektedir ve gelişmekte olan ülkelerde %20'den fazla olduğu bildirilmiştir (1). Özellikle %20-40'ı sağlık çalışanlarının uygun olmayan el hijyeninden kaynaklı olan hastane enfeksiyonlarının tüm dünyada insidansı ortalama %7-10 civarındadır ve bu enfeksiyonların tedavi maliyeti oldukça yüksektir. Nerdeyse %30-50'si el hijyeni ile çözülebilecek bu enfeksiyonların sadece ABD'ne yıllık maliyeti yaklaşık beş milyar dolardır. Bu sorun el hijyeni gibi basit bir işlemle engellenebilir (2). Mikroorganizmalar üzerine farklı mekanizmalarla antiseptik ve dezenfektanlar (biyositler) günümüzde kullanımı yaygın olan maddeler arasındadır (3). Antiseptik maddeler, hijyen amaçlı patojen mikroorganizmaların üremelerini engellemek veya öldürmek amacıyla kullanılan değişik türlerdeki mikroorganizmalara karşı farklı etkileri olan önemli ajanlardır (4).

El derisinde kullanım için en uygun dezenfektan madde alkollerdir. El dezenfektanları içinde kullanılan

alkoller etanol ve izopropil alkoldür (5). Alkol bazlı el antiseptikler, protein denatürasyonu yoluyla gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler, mikobakteriler ve birçok virüse karşı güçlü ve hızlı öldürücü etkiye sahiptir. %60-95'lik konsantrasyonlarda etkinlikleri en yüksek düzeydedir. Fakat, alkol oranının su oranından fazla olması denatürasyon özelliğini azaltmaktadır. Ellerde kuruluk ve dermatit oluşturma riski oluşturabilir ve bu sebeple içeriğine yumuşatıcı maddeler ilave edilmektedir. Alkol yanıcı bir madde olması nedeniyle kullanım ve depolanma esnasında dikkat edilmesi gerekmektedir (6).

Süperoksidize su, sodyum klorür çözeltilerinin elektrolizi ile üretilir. Çok iyi biyosidal aktiviteye sahiptirler ve ucuzdurlar. Biyolojik dokular için toksik olmayıp, solunum yollarını, gözleri ve cildi tahriş etmezler. Bununla birlikte, doğru yapılmayan temizlik sonrası organik kir varlığında antimikrobiyal etkinlik azalabilir (7). Hipokloröz asit (HOCL), insanlar ve hayvanların yara tedavisi için yaygın olarak kullanılmaktadır (8). HOCL, bağışıklık sistemindeki nötrofil ve makrofajların oksidatif mekanizma sürecinde ortaya çıkan ürünlerden biridir (9). HOCL çözeltilisinin nötr pH'ya sahip olması, güvenli bir sterilizatör ve etkili bir biyosit özelliği verir. HOCL bakteri hücrelerinde adeno trifosfat üretimini azaltan ve tahriş edici olmayan bir ajan olarak kabul edilir. HOCL, protein sentezini inhibe ederek ve hücre

bölünmesini ve çoğalmasını önleyerek bakteri hücrelerini yok eder (10). HOCL, biyofilm varlığında bile etkili olan geniş spektrumlu bir ajandır. Antibakteriyel ve antiviral etkileri üzerine yapılan çalışmalarda *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* ve *Candida albicans*'ı ortadan kaldırdığı tespit edilmiştir (11-12). Pandemi ile beraber antiseptik ürün ihtiyacının artması, bilim insanlarını daha etkin yeni antiseptiklerin geliştirilmesi üzerine çalışmalara yönlendirmiştir. Yeni üretilen antiseptik solüsyonlarının içerik ve etkinlik bakımından standartlara göre değerlendirilmesi önem arz etmektedir. Çalışmamızda süperoksit su içerikli bir antiseptik ürünün (Farmisol, Türkiye) etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Farmisol'ün antimikrobiyal aktivitesi TSE EN 1500 - Kimyasal dezenfektanlar ve antiseptikler - Hijyenik el ovalama maddesi - Deney yöntemi ve gerekler standardında belirtilen yöntemle göre standart % 60 izopropil alkol ile karşılaştırılmıştır (13). Farmisol, pH 7.4'da 200 ppm klor, yaklaşık 900 mV ORP değeri olan hipokloröz asit içeren bir solüsyondur.

Çalışmaya 20 gönüllü dahil edilmiş ve iki gruba ayrılmıştır. 18 yaş altı bireyler ve ellerde kesik, sıyrık veya diğer cilt bozuklukları olanlar çalışmaya dahil edilmemiştir. Gönüllülerden ayrıca deneme günlerinde herhangi bir el ovma veya el kremi kullanmamaları istenmiştir. Tüm gönüllüler yazılı bilgilendirilmiş onam vermişlerdir.

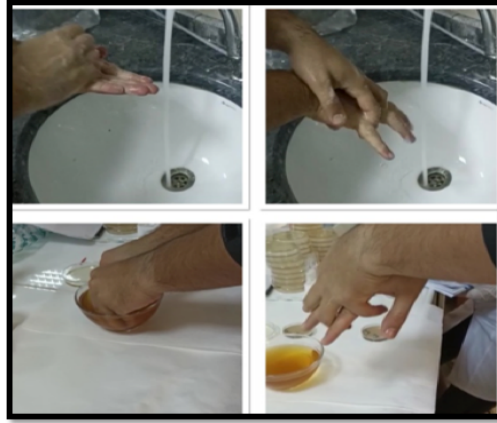
Çalışmamızda standart *E. coli* ATCC 25922 suşu test bakterisi olarak kullanılmıştır. Suş TSA'ya ekilerek 24 saat 36°C inkübe edilmiştir. Üreyen kolonilerden, triptik soy sıvı besiyeri (TSB) ile 1 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Birinci grup öncelikle standart el yıkama talimatına göre 1dk boyunca ellerini sıvı sabun ile yıkamışlardır. Kâğıt havlu ile kuruladıktan sonra, eller 5 saniye süreyle önceden hazırlanmış kontamine TSB'ye mid-

metakarpal seviyeye kadar daldırmışlardır. Üç dakika kuruma süresi sonunda steril TSB içine el daldırılmıştır. Burada dilüsyon yapılarak TSA besiyerine 100 µl ekim yapılmıştır. Böylece yapay olarak kontamine edilmiş olan ellerdeki bakteri yoğunluğunu yansıtan ilk değer numuneleri elde edilmiş olacaktır. Eller tekrar kontamine edildikten sonra 3 ml antiseptik ürün standarda uygun şekilde uygulanıp 30 saniye sonra eller 5 saniye süre ile akan musluk suyu altından geçirildikten sonra parmak uçları, içerisinde nötralizan olarak %5 yumurta sarısı içeren 10'ar ml'lik TSB'ye daldırılarak bir dakika boyunca ovuşturma hareketi yapılmıştır (Şekil 1). Burada dilüsyon yapılarak, TSA besiyerine 100 µl ekim yapılmıştır. Böylece antiseptik uygulanması sonrası elde kalan bakterilerin sayısının (son değer) hesaplanmasında kullanılacak son değer numuneleri elde edilmiş olur. İkinci gruptaki gönüllülere antiseptikler iki kez 30 ml ve toplam 60 sn uygulandıktan sonra numune alınmıştır. TSA besiyerleri 37°C de 18±4 saat süre ile inkübe edildikten sonra koloni sayma yöntemi ile tüm koloniler sayılmıştır. Bir deney setinde her bir gönüllünün test edilen antiseptik ve referans solüsyon için ayrı ayrı logaritmik azaltma faktörleri (log AF) (log AF= log ilk değer - log son değer) formülüne göre hesaplanmıştır.

Bu çalışma, Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirilmiştir (Tarih: 11.11.2021 ve Karar No: 2021/15-18).

## BULGULAR

Farmisol ve izopropil alkol etkileri 30 sn ve 60 sn olarak test edilmiştir. İlk kontaminasyona göre her iki antiseptik uygulanması sonucunda elde edilen veriler Tablo 1'de gösterilmiştir. Antiseptik sonrası logaritmik azalma düzeyleri 30 sn süre ile bekleyen A grubu gönüllülerde, %60 izopropil alkol için 3.7, Farmisol için ise 3,2'dir. 60 sn süre ile bekleyen B grubu gönüllülerde %60 izopropil alkol için 3.8, Farmisol için ise 3,4'dir. Farmisol ile standart izopropil alkole göre kıyaslanabilir logaritmik azalma tespit edilmiştir (Tablo 2).



Şekil 1. Kontaminasyon işlemleri

Tablo 1. Her iki antiseptik uygulanması sonuçları

Gönüllüler	Antiseptikler	
	log AF süperoksidge su	log AF %60 izopropil alkol
A Grubu (3 ml - 30 sn)	A1	2,6
	A2	2,4
	A3	3,5
	A4	2,9
	A5	3,9
	A6	4,0
	A7	3,4
	A8	2,7
	A9	3,3
	A10	3,1
B Grubu (2 X 3 ml -60 sn)	B1	3,5
	B2	3,1
	B3	2,9
	B4	3,3
	B5	3,8
	B6	3,5
	B7	3,7
	B8	3,3
	B9	4,1
	B10	2,9

Tablo 4. Antiseptiklerin logaritmik azalma düzeyleri

Antiseptikler	A Grubu (3 ml - 30 sn)	B Grubu (2 X 3 ml -60 sn)
%60 İzopropil Alkol	3,7	3,8
Farmisol	3,2	3.4

## TARTIŞMA

COVID-19 pandemi dönemi, ticari el antisepsi ajanlarının çok fazla tüketilmesine ve azalmasına yol açmıştır. Dünya çapında etkinliği ispatlanmış antiseptikler kullanılmak istenmektedir. Antisepsi ve dezenfeksiyon amaçlı kullanılan pek çok ürün bulunmaktadır. Hastaneler ve araştırmacılar tarafından da etki spektrumuna, maliyetine, çalışan ile araç ve gereçlere verdiği zararlara, kullanım kolaylığına göre ürün seçimi yapılmaktadır. Çalışmamızda Farmisol ile %60 izopropil alkolün etkinliği karşılaştırılarak araştırılmış olup, izopropil alkole göre kıyaslanabilir logaritmik azalma tespit edilmiştir.

Dezenfeksiyon hastane enfeksiyonlarının önlenmesinde son derece önemli bir faktördür. Başarılı bir dezenfeksiyon morbidite, mortalite ve tedavi maliyetlerin azalma ve mikroorganizmaların direnç geliştirmemesi açısından önem arz etmektedir. Süperoksidge su içeren bir dezenfektan markasının farklı konsantrasyonlarının hastane enfeksiyon nedeni olduğu bilinen altı tane standart suş (*Acinetobacter baumannii* 19606, *E. coli* 25922, *Enterococcus faecalis* 29212, *Klebsiella pneumoniae* 254988, *P. aeruginosa* 27853, *S. aureus* 29213), dirençli klinik izolatlar (*A. baumannii*, *E. coli*, vancomisin-dirençli *Enterococcus faecium*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, metisilin-dirençli *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Myroides* spp.) ile maya ve küfler üzerinde etkinliği için yapılan bir çalışmada antimikrobiyal etki gösterdiklerini tespit etmişlerdir (14).

Eftekharizadeh ve arkadaşları süper oksitlenmiş suyun, yara enfeksiyonlarını tedavi etmek için povidon iyot gibi mevcut tedavi ile karşılaştırıldıklarında güvenli, etkili ve uygun maliyetli bir yıkama ve temizleme maddesi olduğunu bildirmişlerdir (15).

California Üniversitesi'nde Landa ve ark. *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi* ve *C. albicans* suşlarına, Tokyo'da Sakurai ve ark., ise *P. aeruginosa* ve

*Mycobacterium avium*'a karşı yaptıkları çalışmalarda yine süperoksidge suyun etkili bir dezenfektan olduğu sonucuna varmışlardır (16,17).

Choi ve ark. nın yaptığı iki farklı çalışmada ise süper oksitlenmiş suyun cilt, alet-yüzey dezenfeksiyonunda kullanılabileceğini ve çeşitli çevresel flora bakteri ve mayalarının yanı sıra *Bacillus* ve *Candida* türlerine karşı da aktif olduğunu bildirmişlerdir (18,19).

Japonya'da süper oksitlenmiş su %2 Dialox-c ve %3.8 formalin ile karşılaştırılmış ve süper oksitlenmiş suyun diğer dezenfektanlardan daha etkili olduğunu bildirmişlerdir (20). Nakayama ve ark. yaptıkları çalışmada yanık yaralarının süper oksitlenmiş su kullanılarak yıkanması ve dezenfekte edilmesinin yanık ilişkili sepsisi önlemede yardımcı olabileceğini bildirmişlerdir (21). Vorobjev ve ark., ise spor oluşturan bakterilerin sporları ve vejetatif formları ile nozokomiyal enfeksiyonlara neden olan diğer gram pozitif ve negatif bakteriler üzerine etkili olduğunu bildirmiştir (22). *E. faecalis* biyofilmleri ile enfekte olmuş kök kanallarında süper oksitlenmiş suyun antibakteriyel etkilerini araştıran bir çalışmada dikkat çekici bir bakterisidal etki gösterdiğini bildirmişlerdir (23).

Bu çalışma, süper oksitlenmiş suyun mikroorganizmalar üzerindeki aktivitesini araştıran, daha ileri çalışmalara öncülük edeceğini öngördüğümüz nadir çalışmalardan biridir. Çalışmamız sonucunda mikroorganizma kontaminasyonunda, Farmisol ile anlamlı logaritmik azalma tespit edildiğinden ve kısa süreli uygulama sonrasında olumlu etkinliğinden dolayı, verimli antisepsi sağladığını desteklemektedir. Bu alanda konunun önemi göz önüne alınarak, daha çok sayıda mikroorganizma ile dezenfektanların ve antiseptiklerin etkinlik testlerinin karşılaştırmalı olarak yapılması gerekmektedir. Bu çalışmalarla, dezenfektan ve antiseptiklerin güvenilirliği hususuna ışık tutulacaktır.

## ETİK KURUL ONAYI

\* Bu çalışma, Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirildi (Tarih:11.11.2021 ve Karar No: 2021/15-18).

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. WHO Guidelines for Hand Hygiene in Healthcare. First Global Patient Safety Challenge: Clean Care is a Safer Care. Geneva: WHO patient safety; 2009.
2. Günaydın M. "Hastane Enfeksiyonları ve El Hijeni". 16. DAS Eğitim Semineri, 08 Mayıs 2010.
3. Grare M, Dibama HM, Lafosse S, Ribon A, Mourer M, Regnouf-de-Vains JB, et al. Cationic compounds with activity against multidrug-resistant bacteria: interest of a new compound compared with two older antiseptics, hexamidine and chlorhexidine. Clin Mic Infect. 2010; 16 (5), 432-38.
4. Kayan S, Altanlar N. Investigation of the antimicrobial activities of some disinfectants and antiseptics which are frequently used in hospitals. J Fac Pharm Ankara Uni, 2021; 45(2), 297-308.
5. Golin AP, Choi D, Ghahary A. Hand sanitizers: A review of ingredients, mechanisms of action, modes of delivery, and efficacy against coronaviruses. Am J Infect Control, 2020; 48(9): 1062-7.
6. Aygin D, Yaman Ö. Cerrahi alan enfeksiyonların önlemede el yıkama tekniklerinin yeri ve önemi. Sakarya Tıp Derg, 2020; 10(3): 520-7.
7. Aranke M, Moheimani R, Phuphanich M, Kaye AD, Ngo AL, Viswanath O, et al. Disinfectants in interventional practices. Curr Pain Headache Rep, 2021; Mar 11;25(4):21.
8. Alhbou Y, Karslı B, Sümer T. Comparison of the efficiency of ethacridine lactate and hypochlorous acid during the early period of wound healing in rats . Kocatepe Vet J, 2021; 14 (3), 366-75.
9. Ateş FM. Su, Tuz, Hipokloröz asit ve enfeksiyonlardan korunma. Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi. 2020; 3 (2), 154-60.
10. Yıldız I, Yılmaz O, Tileklioglu E, Sakarya S, Ertabaklar H. Stabilised hypochlorous acid: a new therapeutic strategy against dangerous parasitic eye infection agent *Acanthamoeba* spp. J Environ Protect Eco. 2018; 19(3), 1397-404.
11. Sakarya S, Gunay N, Karakulak M, Ozturk B, Ertugrul B. Hypochlorous acid: an ideal wound care agent with powerful microbicidal, antibiofilm, and wound healing potency. Wounds, 2014; 26(12):342-50.
12. Armstrong DG, Bohn G, Glat P, Kavros SJ, Kirsner R, Snyder R, et al. Expert Recommendations for the Use of Hypochlorous Solution: Science and Clinical Application. Ostomy Wound Manage, 2015; 61(5):2-19.
13. TS EN 1500, Kimyasal dezenfektanlar ve antiseptikler - Hijyenik el ovalama maddesi - Deney yöntemi ve gerekler.
14. Gunaydin M, Esen S, Karadag A. In vitro antimicrobial activity of Medilox® super-oxidized water. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2014;13, 29.
15. Eftekhariadeh F, Dehnavieh R, Noori Hekmat S, Mehrolohasani MH. Health technology assessment on super oxidized water for treatment of chronic wounds. Med J Islam Repub Iran, 2016; 30:384.
16. Landa-Solis C, Gonzalez-Espinosa D, Guzman B, Snyder M, Reyes-Teran G, Torres K, et al. Microcyn: a novel super-oxidized water with neutral pH and disinfectant activity. J Hosp Infect, 2005; 61(4):291-9.
17. Sakurai Y, Ogoshi K, Okubo T, Kaku M, Kobayashi I. Strongly acidic electrolyzed water: Valuable disinfectant of endoscopes. Dig Endosc, 2002; 14(2):61-6.
18. Choi TY, Kim WB. Bactericidal effect of disinfectant a super-oxidized water, Medilox. Korean J Nosocomial Infect Control, 1998; 3:1-6.
19. Choi TY, Yang EY: Bactericidal effect of Medilox, an super oxidized water generated by Medilox against bacteria, fungi and mycobacteria. J Soonclumhvcing Med Science, 2009; 14(3):H5-794.
20. Tanaka N, Fujisawa T, Daimon T, Fujiwara K, Yamamoto M, Abe T. The use of electrolyzed solutions forthe cleaning and disinfecting of dialyzers. Osaka, Japan. Artif Organs, 2000; 24(12):921-8.
21. Nakae H, Inaba H. Effectiveness of electrolyzed oxidized water irrigation in a burn-wound infection model. J Trauma Inj Infect Crit Care, 2000; 49:511-51.
22. Vorobjeva NV, Vorobjeva LI, Khodjaev EY. The bactericidal effects of electrolyzed oxidizing water on bacterial strains involved in hospital infections. Artif Organs, 2004; 28(6):590-2.
23. Zan R, Alacam T, Hubbezoglu I, Tunc T, Sumer Z, Alici O. Antibacterial efficacy of super-oxidized water on *Enterococcus faecalis* biofilms in root canal. Jundishapur J Microbiol, 2016; 9(9).

# Serum albumin düzeylerinin ölçümünde bromkrezol yeşili ve bromkrezol moru yöntemlerinin karşılaştırılması

## Comparison of bromcresol green and bromocresol purple methods for measuring serum albumin levels

Tevfik HONCA<sup>1</sup> (ID), Nesibe Nur AYDIN<sup>2</sup> (ID), İbrahim AYDIN<sup>3</sup> (ID), Fatih BAKIR<sup>4</sup> (ID)

### ÖZET

**Amaç:** Albumin, kanda bulunan proteinlerin %55-60'ını oluşturan ana taşıyıcı moleküldür. Karaciğerde sentezlenir ve dolaşıma buradan salınır. Kanda yağ asitleri başta olmak üzere pek çok molekülün taşınmasında görev almaktadır. Klinik uygulamalarda serum, idrar ve vücut sıvılarındaki düzeyleri ölçülmektedir. İdrarla albumin kaybı ve/veya karaciğerde üretiminin azalması durumunda, kan albumin düzeyleri azalmaktadır, fakat serum albumin düzeylerini arttıran sebepler; yoğun ilaç kullanımı ve kan alımı esnasında işlemin uzamasından dolayı oluşan konsantrasyon artışı gibi birkaç olası nedenle sınırlıdır.

**Yöntem:** Bu çalışmayı, hastanemiz laboratuvarında yapılan albumin ölçümleri hakkında, test istemi yapan hekimler tarafından, sonuçların klinik tablo ile uyumsuz olduğu yönündeki geri bildirimleri nedeniyle, yöntem karşılaştırma çalışması olarak planladık. Çalışmaya 40 hasta dahil edildi, alınan serum örneklerinde albumin düzeyleri bromkrezol yeşili ve bromkrezol moru yöntemleri ile aynı günde ölçülerek, veriler SPSS 26.0 paket programıyla değerlendirildi. Ölçümler Alinity c-series

### ABSTRACT

**Objective:** Albumin is the main carrier molecule that makes up 55-60% of the proteins in the blood. In clinical applications, its levels are measured in serum, urine and body fluids. In the case of urinary albumin loss and/or decreased liver production, albumin levels in the blood decrease, but the reasons for increasing serum albumin levels are very limited. We planned this study as a method comparison study due to the feedback that albumin measurements made in our hospital's laboratory were relatively high.

**Methods:** Forty patients were included in the study, albumin levels in serum samples were measured with bromcresol green and bromcresol purple methods on the same day, and the data were evaluated with SPSS 26.0 package program. Measurements were made on the Alinity c-series (Abbott Laboratories, Chicago, IL, USA) autoanalyzer using their kit. Average Bias was 0.535 and % Bias was 14.22 between the two methods.

<sup>1</sup>Özel Lokman Hekim Akay Hastanesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü, Ankara

<sup>2</sup>Bilkent Şehir Hastanesi Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

<sup>3</sup>Memorial Hastanesi Biyokimya Bölümü, Ankara

<sup>4</sup>Lokman Hekim Üniversitesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Tevfik HONCA

Beytepe Mah. Acarbeytepe Evleri 1712. Sokak No:2/15 Ankara - Türkiye

E-posta / E-mail : drth16@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 19.05.2023

Kabul Tarihi / Accepted : 13.07.2023

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.36675

Honca T, Aydın NN, Aydın İ, Bakır F. Serum albumin düzeylerinin ölçümünde bromkrezol yeşili ve bromkrezol moru yöntemlerinin karşılaştırılması  
Türk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(3): 323 - 328



(Abbott Laboratories, Chicago, IL, USA) otoanalizöründe Abbottfirmasının kitleri kullanılarak yapıldı.

**Bulgular:** İki yöntem arasında ortalama bias 0,535, % Bias ise 14,22 bulunmuştur. İki yöntem ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı iken ( $p<0.001$ ), yöntemler arasında pozitif yönde, güçlü ( $r=0.959$ ) ve istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.001$ ) korelasyon tespit edildi,  $p<0.05$  düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

**Sonuç:** Her iki yöntem için ölçüm sonuçlarının tıbben müsaade edilen hata sınırları içerisinde olduğu, ancak yöntemlerin her ikisinin ayrı ayrı referans yöntemle karşılaştırılması maksadıyla ileri bir çalışmaya ihtiyaç olduğu değerlendirildi.

**Anahtar Kelimeler:** Albumin, yöntem, karşılaştırma

**Results:** While the difference between the means of the two methods was statistically significant ( $p<0.001$ ), there was a positive, strong ( $r=0.959$ ) and statistically significant ( $p<0.001$ ) correlation between the methods, and the  $p<0.05$  level was considered statistically significant.

**Conclusion:** It was evaluated that the measurement results for both methods were within the limits of medically permissible error, but further study was needed to compare both methods separately with the reference method.

**Key Words:** Albumin, method, comparison

## GİRİŞ

Albumin, globüler yapıda bir protein ailesinin ismidir. Tıpta kullanım şekliyle serum albumini; kanda bulunan proteinlerin %55-60'ını oluşturan ana taşıyıcı molekülü ifade etmektedir. Albumin karaciğerde sentezlenir ve dolaşıma buradan salınır (1). Kanda albumin, yağ asitleri başta olmak üzere pek çok molekülün taşınmasında görev almaktadır. Bununla birlikte damar içi ve ekstrasellüler matriks arasındaki sıvı dengesinde, damar içi onkotik basıncın oluşturulmasında esas fonksiyonu üstlenen moleküldür. Klinik uygulamalarda karaciğer ve böbrek fonksiyonlarının test edilmesi maksadıyla serum ve idrarda düzeyleri takip edilmektedir (2). Normalde idrarda bulunmaz, ancak renal süzme fonksiyonunun bozulduğu hastalıklarda idrarla kaybı, kandaki düzeylerinde de azalmaya neden olabilir. Ayrıca, karaciğeri etkileyen ileri düzeylerdeki patolojilerde, karaciğerden üretiminin azalması sonucunda yine serum albumin düzeylerinde azalma gözlenmektedir

(3).

Serum albumin düzeylerindeki düşüklük klinik olarak anlamlı iken, albumin düzeylerinin yükseldiği klinik durumlar; yoğun ilaç kullanımı ve kan alımı esnasında işlemin uzamasından dolayı oluşan konsantrasyon artışı gibi birkaç olası nedenle sınırlıdır (4).

Albumin düzeylerinin ölçümünde referans kabul edilen metod elektroimmün ölçümdür. Bununla birlikte klinik laboratuvarlarda bromkrezol yeşili (BCG) en sık kullanılan metod olarak öne çıkmaktadır (5). Fakat son dönem böbrek yetmezliği, yoğun ilaç kullanımı veya nefrotik sendrom gibi bazı hasta gruplarında BCG metodunun spesifitesi tartışmalı olup, bu durumlarda bromkrezol moru (BCP) yönteminin dış etkenlerden daha az etkilendiği ifade edilmektedir (6). Biz de çalışmamızda, hastanemize başvuran hastaların albumin ölçümlerinde klinik tabloyla uyumsuz bir şekilde, yüksek olduğu düşünülen sonuçların bulunduğu yönündeki geri bildirimlerden dolayı, BCG ve BCP yöntemlerinin performanslarını

karşılaştırmayı, elde edilen verilerle hangi yöntemin klinik kararda daha faydalı olabileceği konusunda literatüre katkı sağlamayı amaçladık.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Memorial Ankara Hastanesine başvuran hastalardan, muayene sonrası klinisyen tarafından serum albumin testi istenen randomize olarak seçilmiş NCCLS EP9A2 protokolüne uygun olarak (7) 40 hasta çalışmaya dahil edildi. Randomizasyonu sağlamak adına çalışma gününde albumin test isteği olan tüm örnekler çalışmaya dahil edildi. Hasta serumlarında albumin düzeyleri BCG ve BCP yöntemlerinin her ikisiyle birlikte, aynı günde, Alinity c-series (Abbott Laboratories, Chicago, IL, USA) otoanalizöründe kendi kitleri kullanılarak ölçüldü. Her iki yöntem çalışma öncesinde üretici firmanın direktiflerine uygun şekilde kendi kalibratörü kullanılarak kalibre edildi. İç kalite kontrol materyali olarak da yine üretici tarafından sağlanan kalite kontrol materyali kullanıldı. Her iki testin iç kalite kontrol okumalarının  $\pm 1$  standart

sapma içerisinde olduğu görüldükten sonra çalışmaya başlandı. Çalışma, günlerarası tekrarlanabilirliğin interfere edici etkisinin de dışlanabilmesi maksadıyla üç farklı günde tamamlandı. Çalışma için Lokman Hekim Üniversitesi, Ankara Yerel Etik kurulundan onay alındı ve Helsinki Deklarasyonu prensiplerine uygun olarak yapıldı. Albumin ölçümü yapılacak hastalara çalışma içeriği anlatılarak aydınlatılmış onam formları alındı.

Bu çalışma, Lokman Hekim Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 06.01.2023, Karar no: 2022/217).

## BULGULAR

Her iki yöntemle yapılan serum albumin düzeylerine ait ölçüm sonuçlarının ana tanımlayıcı parametreleri Tablo 1'de verilmiştir.

Abbott Alinity-c cihazında kullanılmak üzere BCG ve BCP yöntemlerine ait üretici firma tarafından beyan edilmiş olan yöntem performans parametreleri Tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 1. BCG ve BCP ile yapılan ölçüm sonuçlarına ait tanımlayıcı veriler

	Alb. BCG Yöntemi	Alb. BCP Yöntemi
Ortalama	3,87	3,34
Standart Sapma	0,67	0,67
Ortanca	3,90	3,50
Min./Max	2,3 / 4,9	1,5 / 4,4

BCG: Bromocresol Green, BCP: Bromocresol Purple

Tablo 2. BCG ve BCP yöntemlerine ait performans parametreleri

	BCG Yöntemi	BCP Yöntemi
Linearite (g/dL)	0,3-9,4	0,4-9,0
LoB/LoD/LoQ* (g/dL)	0,01/0,3/0,3	0,01/0,4/0,4
% Bias**	4,8 %	-1,9 %
Tekrarlanabilirlik	2,6 g/dL için %CV=1,6 9,2 g/dL için %CV=0,4	2,5 g/dL için %CV=0,5 8,6 g/dL için %CV= 0,3

BCG: Bromocresol Green, BCP: Bromocresol Purple,

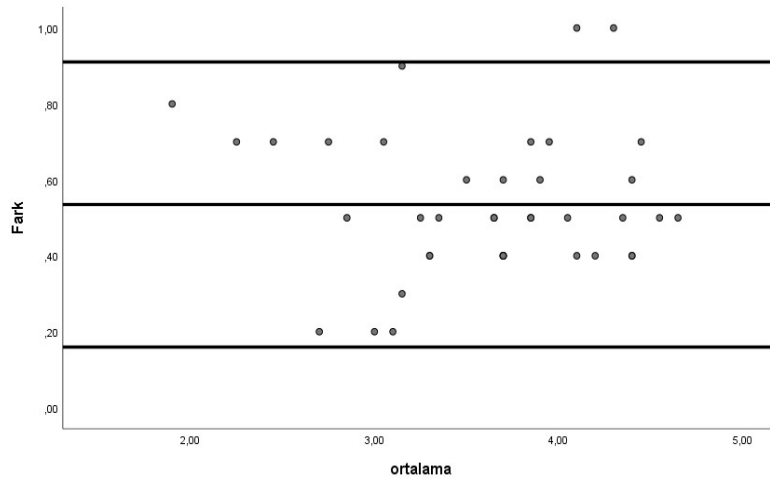
\*LoB (Limit of Blank), LoD (Limit of Detection), LoQ (Limit of Quantitation),

\*\*%Bias, ERM-DA470k/IFCC referans materyali ile tek cihaz ve tek yöntem kullanılarak yapılan ölçümlere dayanarak hesaplanmıştır.

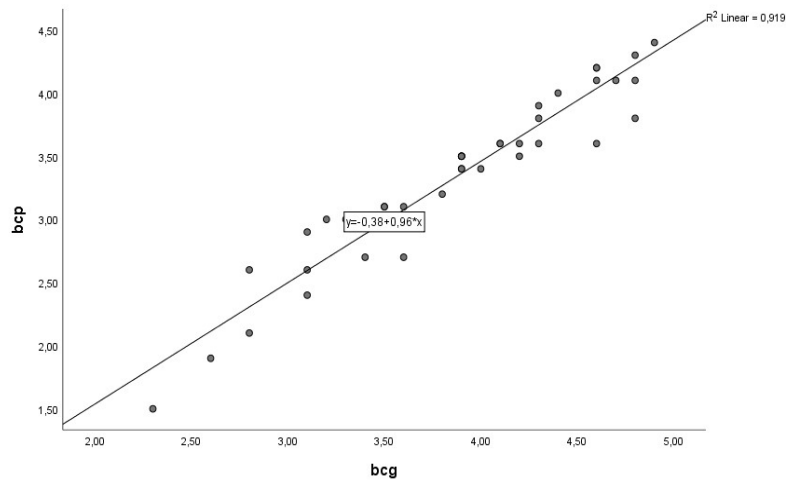
Serum albumin ölçümünde BCP yönteminin dış etkenlerden daha az etkilendiği rapor edildiğinden, her iki yöntemle yapılan ölçüm sonuçları için BCP yöntemi esas alınarak bias hesaplaması yapılmıştır (8). 40 hastaya ait serum albumin düzeyi ölçümleriyle yapılan hesaplamada iki yöntem arasında Ortalama Bias 0,535, % Bias ise 14,22 bulunmuştur. Albumin ölçüm sonuçlarına ait biasın değerlendirildiği Bland Altman grafiği ve Lineer Regresyon analizi Şekil 1-2 de sunulmuştur.

Sürekli değişkenlerin grup içi iki ölçüm (BCG -

BCP) karşılaştırmalarında, Bağımlı gruplarda t testi kullanılmıştır. BCG ve BCP ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Değişkenler arası doğrusal ilişki pearson korelasyon testi ile değerlendirilmiştir, BCG ve BCP yöntemleri arasında pozitif yönde, güçlü ( $r=0.959$ ) ve istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.001$ ) doğrusal ilişki (korelasyon) tespit edilmiştir. Ölçüm ortalamalarının ölçümler arası farklar üzerine etkisi Lineer regresyon analizi ile değerlendirilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi tespit edilmemiştir ( $p=0.963$ ).



Şekil 1. BCG ve BCP yöntemlerine ait Bland Altman grafiği



Şekil 2. BCG ve BCP yöntemlerine ait Lineer Regresyon analizi

## TARTIŞMA

Bu çalışma, hastanemizde görevli klinisyen hekimler tarafından albumin ölçüm sonuçlarının, klinik tablo gözönüne alındığında beklenen değerlerden daha yüksek bulunduğu yönündeki geri bildirimler dikkate alınarak planlanmıştır. Albumin ölçümü klinik laboratuvarlarda sıklıkla yapılmaktadır. Şiddetli dehidratasyon, yoğun ilaç kullanımı ve kan alımı sırasında turnikenin uzun süre takılı kalması gibi durumlar dışında, serum albumin düzeylerindeki yükselme oldukça nadirdir (9). Çalışmamızda elde edilen verilerin istatistiksel analizinde, BCG ve BCP gruplarının anlamlı olarak farklı olduğu, bununla birlikte her iki grup arasında pozitif yönde güçlü bir korelasyon ( $r=0.959$ ) bulunduğu tespit edilmiştir, yani bir grubun değeri ne kadar yükselirse diğeri de benzer şekilde yükselmektedir. Bu doğrusallık ilişkisinde, ölçüm ortalamalarının ölçümler arası farklar üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi tespit edilmemiştir ( $p=0.963$ ). Dolayısıyla ölçümler arası farklar, ortalamadan etkilenmemektedir. Ortalamaların büyük veya küçük olmasının fark oluşumuna istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi yoktur. Sonuç olarak, ölçüm aralığının en alt değerinde de, en üst değerinde de ölçümlerin anlamlı olarak farklı olduğu görülmektedir.

Serum albumin ölçümünde CLIA 88 kriterlerinde toplam hata oranı, 3,5 g/dL düzeyi için %10 ( $\pm 0,35$  g/dL) olarak belirlenmiştir (10). Bu kriter gözönüne alındığında, çalışmamızda değerlendirilen her iki yöntem de ayrı ayrı olarak, tıbben müsaade edilen toplam hata oranını karşılamaktadır. Tıbben müsaade edilen hata oranı, bireysel varyasyonlar, ölçüm belirsizliği ve ölçüm yöntemine ait biası içermektedir. Westgard ekibinin yaklaşımında serum albumin ölçümü için hedeflenmesi gereken kalite standardı olarak, yöntemin biası hariç tutulursa, ölçüm belirsizliği ve biyolojik varyasyonların toplamı  $\pm 1,5-2,33$  oranında olmalıdır. Bu durumda yöntemle ait bias en fazla  $\pm 8,5$  olabilmektedir (11). Çalışmamızda iki yöntemin birbiriyle karşılaştırılması sonucu elde edilen %bias 14,22 bulunmuştur. Bu değer,  $\pm 8,5$  (toplamda %17 lik bir dilime karşılık gelir) olan Westgard ekibinin

kriterine uygun görünmektedir. Ancak bu kriterlerin tıbben müsaade edilen hata oranlarına karşılık geldiği unutulmamalıdır.

Diğer yandan, üretici firma tarafından beyan edilen yöntemlere ait % bias değerleri sırasıyla (BCG ve BCP) 4,8 ve -1,9'dur. Bu durumda üretici firma tarafından yapılan validasyona göre iki yöntem arasında % biasın 6,7 bulunması beklenmektedir. Oysa çalışmamızda bu değer 14,22 olarak bulunmuştur. Hesaplanan bu değer, her ne kadar tıbben müsaade edilen hata oranlarını içeren %17'lik bir dilim içerisinde bulunmakta ise de; BCG ve BCP yöntemlerinden her ikisinin de bu güvenlik aralığı içerisinde bulunduğu konusu kesin olarak teyit edilememektedir. Yöntemlerden birisi güvenlik aralığı içerisinde bulunurken, diğeri tıbben müsaade edilen hata sınırlarının dışında olabilir. Bu ihtimalin gerçek olması durumunda da yine aynı %bias değeri bulunabilir. Çalışmamızda referans yöntem kullanılmamış, öncelikle BCG ve BCP yöntemleriyle yapılan albumin düzeyi ölçümlerinin karşılaştırılması hedeflenmiştir. Ancak her iki yöntemle yapılan ölçümler arasındaki farklılık göz önüne alındığında, ileri bir çalışma planlanarak iki yöntemin de ayrı ayrı olarak tıbben müsaade edilen hata sınırları içerisinde sonuç verdiğinin teyit edilmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak; çalışmamızda kullanılan BCG ve BCP yöntemlerinin her ikisi de CLIA 88 kriterleriyle uyumlu şekilde tıbben müsaade edilen hata oranlarını karşılamaktadır. Üretici tarafından beyan edilen bias değerlerinde, BCP referans yöntemle göre negatif yönde %1,9 değerine sahipken, BCG yöntemi ise %4,8 biasla sonuç vermektedir. Bu bakımdan BCP yönteminin BCG'ye oranla daha düşük ölçüm sonuçları vermesi beklenmektedir. Ancak hasta grubunda yoğun medikasyonun uygulandığı veya ileri dönem böbrek hastalıklarının yoğun bir şekilde başvuru yaptığı merkezlerde, serum albumin değerlerinin gerçekte olandan daha yüksek ölçülmesi, hypoalbumineminin ortaya konmasında problemlere yol açabilecektir. Bahsedilen hasta gruplarında BCG ve BCP yöntemlerinden hangisinin daha güvenli olarak kullanılabilceği yönünde ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## ETİK KURUL ONAYI

\* Bu çalışma, Lokman Hekim Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 06.01.2023, Karar no: 2022/217).

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. Fanali G, di Masi A, Trezza V, Marino M, Fasano M, Ascenzi P. Human serum albumin: from bench to bedside. *Mol Aspects Med*, 2012;33(3): 209-90.
2. Ilenia I, Mauro P. Serum albumin: accuracy and clinical use. *Clin Chim Acta*, 2013; 419: 15-8.
3. Rabbani G, Ahn NS. Structure, enzymatic activities, glycation and therapeutic potential of human serum albumin: A natural cargo. *Int J Biol Macromol*, 2019; 123: 979-90.
4. Ulrich Kragh-Hansen. Molecular and practical aspects of the enzymatic properties of human serum albumin and of albumin-ligand complexes. *Biochim Biophys Acta*, 2013;1830(12):5535-44.
5. Kumar D, Banerjee D. Methods of albumin estimation in clinical biochemistry: Past, present, and future. *Clinica Chimica Acta*, 2017; 469: 150-60.
6. Adam B, Ardiçoğlu NY. Klinik Biyokimya Analiz Metodları, Albumin Tayin Metodları. ISBN: 975-7175-30-7, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2002; 1.Baskı, syf.171-81.
7. NCCLS. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline-Second Edition. NCCLS document EP-9A2 (ISBN 1-56238-472-4). Wayne, PA:NCCLS 2002;22:1-53.
8. Evans GO, Parsons CE. Comparison of two dye-binding Methods for the determination of dog, rat and human plasma albumins. *J Comp Path*, 1988; 98: 453-60.
9. Toyokuni S, Yamada S, Kashima M, Ihara Y, Yamada Y, Tanaka T, et al. Serum 4-hydroxy-2-nonenal-modified albumin is elevated in patients with type 2 diabetes mellitus. *Antioxid Redox Signal*, 2000; 2(4):681-5.
10. Aydın İ, Kurt YG, Çaycı T. Tıbbi Laboratuvarlarda Yöntem Validasyonu, 1.Baskı, ISBN:978-605-5065-06-5, Ankara, SAGE Matbaacılık, 2013; 9-26.
11. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, et al. Current databases on biologic variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest*, 1999; 59: 491-500.

## Regional performance evaluation of healthcare services in Türkiye with cross-efficiency approach

### Çapraz etkinlik yaklaşımı ile Türkiye'deki bölgesel sağlık hizmetleri performansının değerlendirilmesi

Hakan KAÇAK<sup>1</sup> (ID)

#### ABSTRACT

**Objective:** Monitoring and comparing regional service performance is inevitable to use resources effectively and allocate resources without creating interregional inequalities. With the Health Transformation Program, there has been an increase in the amount and quality of the service provided throughout the country. In addition, there has been a decrease in the inequalities between regions due to its implementation. In order to ensure continuity in health service delivery, health service activities in provinces and regions should be followed regularly, and their performance should be evaluated.

**Methods:** The study calculated Data Envelopment Analysis efficiencies and Cross-efficiency for 26 subregions in the NUTS-II classification in Turkey. The number of hospital beds and primary care units were the inputs of the research; the number of primary, secondary and tertiary care visits and the number of inpatients are also the output of the study. Subregions are reordered and grouped according to their cross-efficiency. Decision-making units with unusual production structures were investigated by calculating Maverick Index scores.

#### ÖZET

**Amaç:** Kaynakların etkin kullanılması ve kaynak tahsisinin bölgeler arası eşitsizlikler yaratmaksızın yapılabilmesi için bölgesel hizmet performansının izlenmesi ve karşılaştırılması kaçınılmazdır. Sağlıkta Dönüşüm Programı ile ülke geninde sunulan hizmetin miktar ve kalitesinde artışlar olmuştur. Ayrıca hizmet sunumundan kaynaklı bölgeler arası eşitsizliklerde de azalmalar olmuştur. Sağlık hizmetlerinde sürekliliğin sağlanması için illerde ve bölgelerdeki sağlık hizmetlerinin düzenli bir şekilde takip edilmesi ve performanslarının değerlendirilmesi gerekmektedir.

**Yöntem:** Çalışmada Türkiye'deki IBBS-II sınıflamasında yer alan 26 alt bölgenin Veri Zarflama Analizi etkinlikleri ile Çapraz Etkinlikleri hesaplanmıştır. Hastane yatağı ve birinci basamak sağlık hizmet birimi sayıları araştırmanın girdilerini; birinci, ikinci ve üçüncü basamak sağlık tesislerindeki hasta muayene sayıları ile yatan hasta sayıları da çalışmanın çıktılarını oluşturmaktadır. Alt bölgeler çapraz etkinliklerine göre yeniden sıralanmış ve gruplandırılmıştır. Tüm alt bölgeler için Maverick İndeks puanları hesaplanarak sıra dışı üretim yapılarına sahip olan alt bölgeler belirlenmiştir.

<sup>1</sup>Ankara University Accreditation, Academic Evaluation and Quality Coordinator, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Hakan KAÇAK  
Ankara Üniversitesi Rektörlüğü, Yenimahalle, Ankara - Türkiye  
E-posta / E-mail : hkacak@ankara.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 16.08.2023  
Kabul Tarihi / Accepted : 28.08.2023

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.34793

Kaçak H. Regional performance evaluation of healthcare services in Türkiye with cross-efficiency approach. Turk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(3): 329 - 344

**Results:** Regarding DEA efficiency, the average efficiency score of the ten subregions classified as efficient is 0.97 (sd. 0.0395). The average cross-efficiency score obtained from the benevolent method is 0.89 (sd. 0.058), while the average score achieved through the aggressive method is 0.86 (sd. 0.574). Maverick index scores had a balanced distribution. The average maverick index score for aggressive and benevolent are 0.13 (std. 0.0474), and 0.0871 (std. 0.0420), respectively. Although only the Malatya subregion was classified as efficient in the traditional DEA method, it had low scores in the cross-efficiency evaluation and was classified as a maverick decision unit with an MI score of 0.21.

**Conclusion:** The cross-efficiency method yields more valuable results because it employs more realistic weights for peer evaluation. These outcomes are simpler for decision-makers to comprehend and assess. The regions of Kocaeli, Adana, Aydın, Hatay, Şanlıurfa, and Tekirdağ exhibit notable performance in the cross-efficiency examination, as they have attained the most significant efficiency scores. The regions of Kastamonu, Erzurum, Van, and Ağrı exhibit poor levels of efficiency, thereby requiring the implementation of precautionary measures.

**Key Words:** Cross-efficiency, data envelopment analysis, health policy, performance management

**Bulgular:** Veri zarflama analizi etkinlikleri bakımından on alt bölge etkin olarak gruplandırılmış olup bölgelerin ortalama etkinlik skoru 0,97'dir (sd. 0,0395 ). Benevolent yaklaşıma göre hesaplanan çapraz etkinlik ortalama skoru 0,89 (sd. 0,058) iken aggressive yaklaşıma göre hesaplanan ortalama skor ise 0,86'dır (sd. 0,0574). Maverick indeks skorları dengeli olarak dağılmıştır. Ortalama aggressive maverick indeks skoru 0,13 (std. 0.0474) ve ortalama benevolent Maverick indeks skoru ise 0,0871'dir (std. 0.0420). Sadece Malatya alt bölgesi, geleneksel veri zarflama analizi yönteminde etkin olarak sınıflandırılmasına rağmen çapraz etkinlik değerlendirmesinde düşük skorlar almış ve 0,21 indeks skoru ile maverick karar birimi olarak sınıflandırılmıştır.

**Sonuç:** Çapraz etkinlik yöntemi daha gerçekçi ağırlıklar kullanarak akran-değerlendirmesi yaptığı için daha kullanışlı sonuçlar ortaya koymaktadır. Söz konusu sonuçların karar alıcılar tarafından anlaşılması ve değerlendirilmesi daha kolaydır. Çapraz etkinlik değerlendirmesinde Kocaeli, Adana, Aydın, Hatay, Şanlıurfa ve Tekirdağ alt bölgeleri en yüksek etkinlik skorlu bölgeler olarak öne çıkmaktadır. Kastamonu, Erzurum, Van ve Ağrı alt bölgeleri de düşük etkinlik skorlu bölgeler olup önlem alınması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Çapraz etkinlik, veri zarflama analizi, sağlık politikası, performans yönetimi

## INTRODUCTION

National health systems strive to ensure health services and establish sustainable health systems. However, healthcare expenditures are on the rise in nearly all nations due to shifting populations, changing disease patterns, and technological advancements. These changes significantly impact countries with fiscal deficits and constrained economic resources for healthcare (1). Several health systems worldwide have implemented significant changes to the administration and provision of care to cope

with disparities in health services and healthcare accessibility (2). Despite all of these advancements, resource allocation and management challenges persist. According to the World Health Report (3), it has been estimated that a substantial amount of health spending, ranging from 20% to 40%, is lost due to inefficiencies in health systems. Inefficient utilization of health services wastes resources and harms macroeconomic balances. Scientific productivity measurement is the first step to rational resource utilization (4).



In parallel with global advancements in healthcare systems, the Health Transformation Program in Turkey, initiated in 2003, has undertaken comprehensive reforms in governance, organizational structure, financial mechanisms, resource allocation, and healthcare provision to achieve universal health coverage (5). The primary objective of the Health Transformation Program (HTP) is to establish a health system characterized by effectiveness, efficiency, and equity, ensuring that resources are utilized in the most optimal manner possible (6). Turkey has made significant progress in the process of HTP. Moreover, it is still possible to enhance the general health situation if further progress is made in the area of equity in access to health services, particularly in the geographical dimension (7).

Despite all this improvement potential, some measures should be taken regarding the sustainability of health services. For example, based on data from the Health Statistics Yearbook (8), the health spending per capita (purchasing power parity basis) in Turkey for 2021 amounted to \$1,668. Additionally, the proportion of total health expenditure relative to the country's Gross Domestic Product (GDP) was recorded at 4.9%. This rate is significantly lower than the average of other OECD nations (9.7%). It is necessary to increase the share of health expenditures in GDP, to comprehend the efficiency of resource use, and to take measures for productivity.

Performance evaluation of subregions can inform policy-makers about resource usage, allocation, and efficiency. Data envelopment analysis and its extension cross-efficiency approach can be used to achieve this aim.

This article evaluates the performance of 26 NUTS-II subregions in Turkey using the cross-efficiency approach. The study is one of the first studies in healthcare in which the method was applied comprehensively.

### Literature review

Data envelopment analysis (DEA) is widely utilized in the field of healthcare services. There are several

studies on topics such as nursing centers (9,10), dialysis units (11), hospital efficiency (12,13), and health system comparisons (14,15), case management efficiency (16,17). However, there are few studies on cross-efficiency studies on healthcare services.

In the healthcare area: Abolghasem et al. (18) investigated the performance of 120 countries' health systems and assessed their efficiency relative to their peers using cross-efficiency and cluster analysis. Floku et al. (19) examined the use of post-DEA cross-evaluation and cluster analysis in Greek National Health Service (NHS) hospitals. The researchers found that cross-efficiency assessment enables decision-makers to effectively identify and solve issues that may have been neglected during the first stage of DEA analysis. Adejoh et al. (20), conducted a study to evaluate the efficiency and ranking of primary healthcare services in a metropolitan area in Nigeria with a cross-efficiency approach. Mirzozaffari and Alinezhad (2017), studied heart hospital performance ranking using the cross-efficiency and two-stage DEA method. Wang (21), evaluates the performance of community health service with cross-efficiency approach. Costantino et al. (22), discuss applying a fuzzy cross-efficiency technique to evaluate the performance of healthcare systems in the presence of uncertainty. Yaya et al. (23), used game cross-efficiency approach to assess the efficiency of China's healthcare services. They discovered that the technique improves the conventional DEA. Zare et al.(24), suggested using a game cross-efficiency model to assess performance and productivity in Iranian healthcare centers.

Only two studies have employed the cross-efficiency technique in the field of healthcare services in Türkiye: Torun (25), conducted an assessment of cross-efficiency in Obstetrics and Gynecology Hospitals. Similarly, Kaçak and Yıldırım (26), studied cross-efficiency of research and training hospitals.

### Data Envelopment Analysis

DEA is a widely employed method for assessing efficiency. It enables the identification of efficient

units using a non-parametric, mathematical linear programming method (19). The main advantage of DEA is to allow the usage of multiple inputs and outputs. Another advantage is that Decision Making Units are compared to their actual performance, instead of an unrealistic theoretical benchmark. Other benefits of the method are: DEA can predict the improvement needed to improve efficiency scores for inefficient DMUs. DEA provides more information on ‘peer’ organizations. Policymakers can increase allocation efficiency by distributing more resources to DMUs that perform better. On the other hand, DEA’s disadvantage is ignoring random error and being sensitive to outliers. Besides, DEA scores measure relative efficiency within the sample, not absolute efficiency (14,27-30).

The DEA method evaluates the efficiency of each DMU by calculating the ratio between the weighted sum of the outputs and the weighted sum of the inputs (31). This model was first proposed by Charnes et al. (32), and formulated as follows:

$$\begin{aligned}
 \text{Max } E_{dd} &= \frac{\sum_{r=1}^s u_{rd} y_{rd}}{\sum_{i=1}^m v_{id} x_{id}} \\
 \text{s.t. } E_{dd} &= \frac{\sum_{r=1}^s u_{rd} y_{rj}}{\sum_{i=1}^m v_{id} x_{ij}} \leq 1, j = 1, 2, \dots, n. \\
 u_{rd} &\geq 0, r = 1, \dots, s. \\
 v_{id} &\geq 0, i = 1, \dots, m.
 \end{aligned}
 \tag{1}$$

where  $v_{id}$  and  $u_{rd}$  represent input and output weights for DMU $_d$ , respectively.

**Cross-Efficiency**

Cross-efficiency was introduced by Sexton et al. (33) and further developed by Doyle and Green (34). The cross-efficiency evaluation method is widely utilized for ranking the performance of DMUs due to its ability to effectively eliminate unrealistic weight schemes and distinguish between good and poor performers. This method achieves these advantages without requiring weight restrictions from experts in the application area (35). The utilization of cross-efficiency assessment proves to be a valuable method

for ranking DMUs and validating post-DEA outcomes (35,36).

Cross-efficiency is based on employing DEA in peer evaluations rather than self-evaluations. In other words, the purpose of evaluating cross-efficiency is to compare a DMU’s self-evaluated DEA efficiency score with the cross-evaluated (equivalent) efficiency scores assigned to it by its peers (25).

Using the weights chosen by DMU $_d$  in formula (1), the cross-efficiency of  $j$  DMU is calculated as follows (37):

$$E_{dj} = \frac{\sum_{r=1}^s u_{rd}^* y_{rj}}{\sum_{i=1}^m v_{id}^* x_{ij}}, d, j = 1, 2, \dots, n$$

The notation (\*) represents the optimal values in model (4.1). For each DMU $_j$  (where  $j = 1, 2, \dots, n$ ), the average of all  $E_{dj}$  (where  $d = 1, 2, \dots, n$ ) referred to as the cross-efficiency score for DMU $_j$ .

$$E_j = \frac{1}{n} \sum_{d=1}^n E_{dj}$$

Cross-efficiency may be helpful to overcome the maverick DMU problem, assess the similarity of peer groups, sub-classify efficiency DMU calculated by simple DEA, and identify the good all-round performer (29).

Cross-efficiency (or cross-evaluation) analysis offers an additional understanding of the most efficient performers in a given sample. Cross-efficiency is derived from the concept of peer evaluation. In this context, the efficiency scores are recalculated for each DMU by evaluating each unit using the weights of all DMUs instead of relying on its own weights. The mean cross-efficiency score can be interpreted as the average peer assessment (29,38).

**Aggressive and Benevolent Cross-Efficiency**

Depending on the selection of input/output weights, Sexton et al. proposed two benevolent and

aggressive scenarios for conducting cross-efficiency evaluation for DMU k. The initial objective for both scenarios is the maximum simple efficiency score for DMU k. The secondary objective of average peer evaluation is maximized in the benevolent scenario and minimized in the aggressive scenario (25).

$$\begin{aligned}
 & \min \sum_{r=1}^s (u_{rk} \sum_{j \neq k} y_{rj}) \\
 & \text{s.t.} \\
 & \sum_{i=1}^m (v_{ik} \sum_{j \neq k} x_{ij}) = 1 \\
 & \sum_{r=1}^s u_{rk} y_{rj} - \sum_{i=1}^m v_{ik} x_{ij} \leq 1 \quad j = 1, \dots, n \ (j \neq k) \quad (5) \\
 & \sum_{r=1}^s u_{rk} y_{rk} - E_{kk} \sum_{i=1}^m v_{ik} x_{ik} = 0 \\
 & v_{ik} \geq 0 \quad i = 1, \dots, m \\
 & u_{rk} \geq 0 \quad r = 1, \dots, s
 \end{aligned}$$

Aggressive cross-efficiency method can be formulated as follows:

$$\begin{aligned}
 & \max \sum_{r=1}^s (u_{rk} \sum_{j \neq k} y_{rj}) \\
 & \text{s.t.} \\
 & \sum_{i=1}^m (v_{ik} \sum_{j \neq k} x_{ij}) = 1 \\
 & \sum_{r=1}^s u_{rk} y_{rj} - \sum_{i=1}^m v_{ik} x_{ij} \leq 1 \quad j = 1, \dots, n \ (j \neq k) \quad (4) \\
 & \sum_{r=1}^s u_{rk} y_{rk} - E_{kk} \sum_{i=1}^m v_{ik} x_{ik} = 0 \\
 & v_{ik} \geq 0 \quad i = 1, \dots, m \\
 & u_{rk} \geq 0 \quad r = 1, \dots, s
 \end{aligned}$$

Similarly, Doyle and Green proposed the following benevolent scenario model to minimize the cross-efficiency of all (j ≠ k) DMUs:

**Maverick Index:**

Mavericks are the units that use “an unusual production technology” when compared to the production technologies of the other DMU units (39). Maverick DMUs generally exhibit distinct optimal input-output weights compared to other normal DMUs, resulting in lower cross-efficiency scores (40).

$$M_k = \frac{E_{kk} - e_k}{e_k}$$

$$e_k = \frac{1}{n - 1} \sum_{s \neq k} E_{sk}$$

In the Maverick Index (MI) formulation, E<sub>kk</sub> is the simple efficiency or self-evaluation of the generic

DMUk, whereas e<sub>k</sub> is the average peer evaluation of that unit. Consequently, the greater the MI, the more divergent the DMU. Therefore, a unit has no exact maverick threshold (39). The MI (false positive index) assesses the degree to which a unit shifts from peer evaluation to self-evaluation (29). Mavericks are DMUs with a MI in excess of 0.20. A DMU with a self-efficiency of 1 but a high MI is a false positive (41).

In conclusion, mavericks might be evaluated as efficient when using their own weights, but they have significantly lower efficiency scores when using the weights other DMUs choose (42).

**MATERIAL and METHOD**

The data used in the study were acquired from the Health Statistics Yearbook for the year 2021(8). The data were gathered at the province level and subsequently analyzed by aggregating them into 26 subregions based on the NUTS-II classification. Input Oriented Constant Return to Scale (CRS) DEA model and Cross-efficiency approach were used to analyze subregions’ health data. Under the CRS model, cross-efficiency scores range from 0 to 100%, while under the VRS model, it is possible to have negative cross-efficiency scores because of the non-linear relationship between variables and scale effects. This situation may lead to problems with interpreting cross-efficiency scores (29). Therefore, the CRS model was employed in the evaluation of DEA.

The model’s inputs consist of the number of hospital beds and family medicine units, while the outputs include the number of primary care visits, secondary and tertiary care visits (hospital care), and inpatients. Beds, the number of outpatients, and the number of inpatients are frequently used variables in healthcare studies (43-46) In addition, PHC unit numbers are used to evaluate the performance of family medicine (20,47).

The R Statistical Software’s deaR Package was utilized to perform cross-efficiency analysis.

## RESULTS

Descriptive statistics for inputs and outputs are presented in Table 1.

In 2021, There were 254,497 hospital beds and 26,928 Primary Health Care Units throughout the country, the number of outpatient visits in

primary care was 245,525,320, the number of outpatient visits in secondary and tertiary hospitals was 430,126,870, the number of inpatients was 11,785,492. There were 9,118 outpatients per primary health care unit, 965 outpatients per secondary and tertiary healthcare institution, and the number of inpatients per bed was 46.

Table 1. Descriptive statistics for input and output variables

Variables	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Beds	26	2,220	46,960	9,788	8,460
Primary Health Care Units	26	246	4,969	1,036	883
Primary Health Care Facilities Visits	26	2,340,134	33,518,072	9,443,282	6,238,362
Secondary and Tertiary Health Care Visits	26	3,526,909	86,226,136	16,543,341	15,594,169
Inpatients	26	75,224	2,045,691	313,826	423,464

Cross-efficiency matrixes created based on the aggressive and benevolent models are presented in Tables 2 and 3. The matrixes include peer evaluation, average cross-efficiency scores, and rankings. In addition to cross-efficiency tables, heat maps of cross-efficiencies are presented in Figures 1 and 2. Values in the cross-efficiency matrix are shown in the heat map visually. Table 4 presents the combined display of CCR efficiency, average cross-efficiency scores, and MI.

The average efficiency scores are CCR efficiency 0.9696 (std. 0.0395), Aggressive Cross-efficiency 0.8576 (std. 0.0574), and Benevolent Cross-efficiency 0.8937 (std. 0.0580). According to the table, the average cross-efficiency ranges for aggressive and benevolent models are 0.738-0.960 and 0.755-0.988, respectively. The value of the benevolent strategy is greater than that of the aggressive strategy (Table 4).

Upon examination of the maverick index values, it becomes apparent that a balanced distribution is evident. The range for the aggressive category ranges

from a minimum value of 0.04 to a maximum value of 0.21. On the other hand, the range for the benevolent category extends from a minimum value of 0.01 to a maximum value of 0.20. Malatya, with an aggressive maverick index score of 0.21, can be classified as a false positive DMU due to its distinct production structure compared to other entities. When examination of the benevolent maverick index values, it is seen that there is an absence of a maverick DMU (Table 4).

The findings of the DEA CRS model indicated that ten subregions were efficient and 16 were inefficient. The cross-efficiency ranges of CRS-efficient DMUs, such as Ankara (0.836-0.913) and Malatya (0.825-0.899), exhibit noteworthy levels of both aggressiveness and benevolence. The Maverick indexes for these subregions are 0.196 and 0.216, respectively. Malatya has already been identified as the maverick DMU, while the Ankara subregion is placed on the threshold of the maverick classification with a value of 0.196.

Table 2. Aggressive Cross-efficiency Matrix

Subregion	Adana	Ağrı	Ankara	Antalya	Aydın	Bahçeşehir	Bursa	Erzurum	Gaziantep	Hatay	İstanbul	İzmir	Kastamonu	Kayseri	Kırkkale	Kocaeli	Konya	Malatya	Manisa	Mardin	Samsun	Şanlıurfa	Tekirdağ	Trabzon	Van	Zonguldak	Aggressive Eff	Rank	
Adana	1.0000	0.7457	0.5195	0.6939	1.0000	0.9730	0.7974	0.5244	0.8542	0.8957	0.5339	0.7682	0.7373	0.6824	0.9117	0.8866	0.6132	0.5749	0.8561	0.7988	0.7110	0.8055	0.7926	0.7106	0.5643	0.7117	0.9442	2	
Ağrı	0.2289	0.9431	0.7034	0.7112	0.7563	0.7749	0.7245	0.4966	0.7755	0.8090	0.8115	0.8327	0.6547	0.6067	0.6981	0.9107	0.5789	0.5658	0.6609	1.0000	0.6616	0.9135	0.7116	0.6685	0.8146	0.7163	0.7853	23	
Ankara	0.8703	0.7333	1.0000	0.9237	0.8658	0.8786	0.8937	0.7904	0.8289	0.8561	0.9885	0.9701	0.8167	0.8689	0.7822	0.9879	0.8738	0.8769	0.8562	0.8113	0.9421	0.8763	0.9627	0.9097	0.8124	0.9073	0.8861	17	
Antalya	0.8820	0.7614	0.9896	0.9847	0.9687	0.8532	0.9633	0.8871	0.9709	0.9901	0.9570	0.9508	0.7478	0.9705	0.7926	1.0000	0.9415	0.9983	0.8546	0.8519	0.9697	0.9674	1.0000	1.0000	0.8602	0.9334	0.8709	12	
Aydın	0.9949	0.7922	0.5070	0.6837	1.0000	0.9741	0.7903	0.5062	0.8617	0.9048	0.5300	0.7666	0.7298	0.6655	0.9141	0.8926	0.5947	0.5564	0.8438	0.8394	0.6938	0.8247	0.7775	0.6967	0.5746	0.7032	0.9400	3	
Bahçeşehir	0.9848	0.9406	0.6564	0.7746	1.0000	0.9915	0.8497	0.5613	0.9175	0.9608	0.7196	0.8832	0.7782	0.7156	0.9169	1.0000	0.6570	0.6260	0.8560	1.0000	0.7594	0.9547	0.8367	0.7640	0.7474	0.7894	0.8777	10	
Bursa	1.0000	0.7793	0.9635	0.9819	0.9876	0.8469	0.9677	0.8788	1.0000	0.9822	0.9367	0.9394	0.7270	0.9699	0.7946	1.0000	0.9300	0.9931	0.8454	0.8719	0.9532	0.9907	0.9910	1.0000	0.8694	0.9265	0.8849	9	
Erzurum	1.0000	0.6647	0.9312	0.9519	0.9738	0.8601	0.9443	0.8998	0.9271	0.9196	0.8608	0.8985	0.7485	0.9765	0.8015	0.9436	0.9488	1.0000	0.8811	0.7478	0.9719	0.8782	1.0000	0.9878	0.7559	0.9036	0.7378	26	
Gaziantep	0.9941	0.8880	0.6918	0.8193	1.0000	0.8537	0.8707	0.6567	1.0000	0.9912	0.7178	0.8256	0.6536	0.7921	0.8193	0.9451	0.7180	0.7473	0.7807	0.9654	0.7706	1.0000	0.8385	0.8308	0.7915	0.7896	0.9631	7	
Hatay	1.0000	0.8499	0.7866	0.8784	1.0000	0.8647	0.9090	0.7249	1.0000	0.9912	0.8033	0.8771	0.6923	0.8508	0.8205	0.9757	0.7875	0.8228	0.8124	0.9542	0.8366	1.0000	0.8957	0.8891	0.8257	0.8432	0.9151	4	
İstanbul	0.8775	0.7506	1.0000	0.9278	0.8745	0.8878	0.8998	0.7837	0.8395	0.8674	0.9957	0.9791	0.8218	0.8686	0.7907	1.0000	0.8730	0.8729	0.8601	0.8294	0.9420	0.8911	0.9650	0.9117	0.8250	0.9123	0.8353	18	
İzmir	0.8967	0.7733	1.0000	0.9941	0.8904	0.9008	0.9093	0.8015	0.8442	0.8721	0.9853	0.9792	0.8318	0.8843	0.8038	1.0000	0.8885	0.8878	0.8786	0.8158	0.9566	0.8838	0.9795	0.9235	0.8118	0.9184	0.8930	8	
Kastamonu	1.0000	0.7152	0.8985	0.9715	0.9838	0.9776	0.9339	0.7894	0.8804	0.9121	0.8733	0.9561	0.8599	0.9000	0.8862	1.0000	0.8810	0.8663	0.9505	0.7905	0.9596	0.8678	1.0000	0.9277	0.7426	0.9097	0.7452	25	
Kayseri	1.0000	0.6647	0.9312	0.9519	0.9738	0.8601	0.9443	0.8998	0.9271	0.9196	0.8608	0.8985	0.7485	0.9765	0.8015	0.9436	0.9488	1.0000	0.8811	0.7478	0.9719	0.8782	1.0000	0.9878	0.7559	0.9036	0.8427	16	
Kırkkale	0.9846	0.9415	0.6477	0.7691	1.0000	0.9909	0.8461	0.5562	0.9162	0.9597	0.7106	0.8778	0.7750	0.7109	0.9171	0.9963	0.6515	0.6201	0.8538	1.0000	0.7540	0.9522	0.8319	0.9759	0.7590	0.7418	0.7844	0.8107	21
Kocaeli	0.9848	0.9406	0.6564	0.7746	1.0000	0.9915	0.8497	0.5613	0.9175	0.9608	0.7196	0.8832	0.7782	0.7156	0.9169	1.0000	0.6570	0.6260	0.8560	1.0000	0.7594	0.9547	0.8367	0.7640	0.7474	0.7894	0.8601	1	
Konya	0.9520	0.7059	1.0000	0.9702	0.9344	0.8477	0.9422	0.8961	0.9149	0.9119	0.9474	0.9386	0.7611	0.9647	0.7792	0.9719	0.9509	1.0000	0.8601	0.7912	0.9788	0.9065	1.0000	0.9878	0.8137	0.9237	0.8083	22	
Malatya	0.8911	0.5664	0.8567	0.8788	0.8616	0.6648	0.8520	0.8888	0.8761	0.8349	0.7633	0.7554	0.5669	0.9310	0.6418	0.8002	0.8960	1.0000	0.7189	0.6480	0.8698	0.8068	0.8864	0.9302	0.6992	0.8005	0.8248	20	
Manisa	1.0000	0.6838	0.8883	0.9104	0.9799	0.9712	0.9277	0.7976	0.8673	0.8982	0.8509	0.9401	0.8556	0.9041	0.8812	0.9813	0.8867	0.8721	0.9533	0.7595	0.9619	0.8430	1.0000	0.9264	0.7166	0.9017	0.8340	19	
Mardin	0.7289	0.9431	0.7034	0.7112	0.7563	0.7749	0.7245	0.4966	0.7755	0.8090	0.8115	0.8327	0.6547	0.6067	0.6981	0.9107	0.5789	0.5658	0.6609	1.0000	0.6616	0.9135	0.7116	0.6685	0.8146	0.7163	0.8605	14	
Samsun	0.9520	0.7059	1.0000	0.9702	0.9344	0.8477	0.9422	0.8961	0.9149	0.9119	0.9474	0.9386	0.7611	0.9647	0.7792	0.9719	0.9509	1.0000	0.8601	0.7912	0.9788	0.9065	1.0000	0.9878	0.8137	0.9237	0.8654	13	
Şanlıurfa	0.8875	0.8662	0.7164	0.8046	0.8948	0.6972	0.8213	0.6640	0.9746	0.9382	0.7451	0.7710	0.5404	0.7729	0.6811	0.8770	0.7942	0.7671	0.6598	0.9498	0.7763	1.0000	0.7791	0.8128	0.8336	0.7516	0.9138	5	
Tekirdağ	1.0000	0.6838	0.8883	0.9104	0.9799	0.9712	0.9277	0.7976	0.8673	0.8982	0.8509	0.9401	0.8556	0.9041	0.8812	0.9813	0.8867	0.8721	0.9533	0.7595	0.9619	0.8430	1.0000	0.9264	0.7166	0.9017	0.8340	6	
Trabzon	1.0000	0.7389	0.9631	0.9768	0.9828	0.8566	0.9630	0.8904	0.9731	0.9604	0.9206	0.9327	0.7421	0.9738	0.8000	0.9857	0.9421	1.0000	0.8627	0.8283	0.9676	0.9515	1.0000	1.0000	0.8327	0.9245	0.8765	11	
Van	0.8746	0.9219	0.8389	0.8537	0.8900	0.8475	0.8590	0.6536	0.9113	0.9262	0.9088	0.9235	0.7200	0.7712	0.7759	1.0000	0.7948	0.7459	0.7671	1.0000	0.8050	1.0000	0.8550	0.8382	0.8864	0.8374	0.7776	24	
Zonguldak	0.9643	0.7529	1.0000	0.9790	0.9517	0.8611	0.9546	0.8788	0.9446	0.9411	0.9678	0.9883	0.7654	0.9593	0.7929	1.0000	0.9384	0.9838	0.8603	0.8411	0.9726	0.9490	1.0000	0.9899	0.8512	0.9336	0.8483	15	



Table 3. Benevolent Cross-efficiency Matrix

Subregion	Adana	Ağrı	Ankara	Anıyba	Aydın	Balkesir	Bursa	Erzurum	Gaziantep	Hatay	İstanbul	İzmir	Kastamonu	Kayseri	Kırkkale	Koceli	Konya	Malatya	Manisa	Mardin	Samsun	Şanlıurfa	Tekirdag	Trabzon	Van	Zonguldak	Benevolent Eff	Rank
Adana	1.0000	0.7793	0.9633	0.9819	0.9876	0.8469	0.9677	0.8788	1.0000	0.9822	0.9367	0.9394	0.7270	0.9699	0.7946	1.0000	0.9300	0.9931	0.8454	0.8719	0.9532	0.9907	0.9910	1.0000	0.8694	0.9265	0.9596	2
Ağrı	0.7289	1.0000	0.9431	0.7034	0.7112	0.7563	0.7749	0.4966	0.7755	0.8090	0.8115	0.8327	0.6547	0.6067	0.6981	0.9107	0.5789	0.5658	0.6609	1.0000	0.6616	0.9135	0.7116	0.6685	0.8146	0.7163	0.7864	25
Ankara	0.9643	0.7529	1.0000	0.9790	0.9517	0.8611	0.9546	0.8788	0.9446	0.9411	0.9678	0.9583	0.7654	0.9593	0.7929	1.0000	0.9304	0.9858	0.8603	0.8411	0.9726	0.9490	1.0000	0.9899	0.8512	0.9336	0.9129	13
Anıyba	0.9820	0.7614	0.9896	0.9847	0.9687	0.8532	0.9633	0.8871	0.9709	0.9601	0.9570	0.9508	0.7478	0.9705	0.7926	1.0000	0.9415	0.9983	0.8546	0.8519	0.9697	0.9674	1.0000	1.0000	0.8602	0.9334	0.9258	10
Aydın	1.0000	0.8529	0.8237	0.8972	1.0000	0.8908	0.9222	0.7374	0.9904	0.9895	0.8437	0.9100	0.7284	0.8622	0.8361	1.0000	0.8064	0.8343	0.8365	0.9373	0.8625	1.0000	0.9193	0.9028	0.8391	0.8667	0.9525	4
Balkesir	0.9848	0.9406	0.6564	0.7746	1.0000	0.9915	0.8497	0.5613	0.9175	0.9608	0.7196	0.8832	0.7782	0.7156	0.9169	1.0000	0.6570	0.6260	0.8560	1.0000	0.7594	0.9547	0.8367	0.7640	0.7474	0.7894	0.8740	18
Bursa	1.0000	0.7793	0.9633	0.9819	0.9876	0.8469	0.9677	0.8788	1.0000	0.9822	0.9367	0.9394	0.7270	0.9699	0.7946	1.0000	0.9300	0.9931	0.8454	0.8719	0.9532	0.9907	0.9910	1.0000	0.8694	0.9265	0.9230	11
Erzurum	1.0000	0.6647	0.9312	0.9519	0.9738	0.8601	0.9443	0.8998	0.9271	0.9196	0.8608	0.8985	0.7485	0.9765	0.8015	0.9436	0.9488	1.0000	0.8811	0.7478	0.9719	0.8782	1.0000	0.9878	0.7559	0.9036	0.8015	24
Gaziantep	0.9965	0.7812	0.9665	0.9826	0.9845	0.8431	0.9669	0.8792	1.0000	0.9816	0.9405	0.9398	0.7247	0.9694	0.7911	1.0000	0.9399	0.9940	0.8418	0.8741	0.9544	0.9926	0.9898	1.0000	0.8731	0.9266	0.9338	7
Hatay	1.0000	0.8499	0.7866	0.8784	1.0000	0.8647	0.9090	0.7249	1.0000	0.9912	0.8033	0.8771	0.6923	0.8508	0.8205	1.0000	0.8810	0.8663	0.9505	0.7905	0.9596	0.8678	1.0000	0.9277	0.7426	0.9097	0.7547	26
İstanbul	0.8775	0.7506	1.0000	0.9278	0.8745	0.8878	0.8998	0.7857	0.8395	0.8674	0.9957	0.9791	0.8218	0.8686	0.7907	1.0000	0.8730	0.8729	0.8601	0.8294	0.9420	0.8911	0.9650	0.9117	0.8250	0.9123	0.9036	14
İzmir	0.8967	0.7373	1.0000	0.9341	0.8904	0.9008	0.9093	0.8015	0.8442	0.8721	0.9853	0.9792	0.8318	0.8843	0.8038	1.0000	0.8885	0.8878	0.8786	0.8158	0.9566	0.8838	0.9795	0.9235	0.8118	0.9184	0.9300	9
Kastamonu	1.0000	0.7152	0.8985	0.9175	0.9838	0.9776	0.9339	0.7894	0.8804	0.9121	0.8733	0.9561	0.8599	0.9000	0.8862	1.0000	0.8810	0.8663	0.9505	0.7905	0.9596	0.8678	1.0000	0.9277	0.7426	0.9097	0.7547	26
Kayseri	1.0000	0.6647	0.9312	0.9519	0.9738	0.8601	0.9443	0.8998	0.9271	0.9196	0.8608	0.8985	0.7485	0.9765	0.8015	0.9436	0.9488	1.0000	0.8811	0.7478	0.9719	0.8782	1.0000	0.9878	0.7559	0.9036	0.8984	16
Kırkkale	0.9846	0.9415	0.6477	0.7691	1.0000	0.9909	0.8461	0.5562	0.9162	0.9397	0.7106	0.8778	0.7750	0.7109	0.9171	0.9963	0.6515	0.6201	0.8538	1.0000	0.7540	0.9522	0.8319	0.7590	0.7418	0.7844	0.8069	23
Koceli	0.9820	0.7614	0.9896	0.9847	0.9687	0.8532	0.9633	0.8871	0.9709	0.9601	0.9570	0.9508	0.7478	0.9705	0.7926	1.0000	0.9415	0.9983	0.8546	0.8519	0.9697	0.9674	1.0000	1.0000	0.8602	0.9334	0.9882	1
Konya	0.9520	0.7059	1.0000	0.9702	0.9344	0.8477	0.9422	0.8961	0.9149	0.9119	0.9474	0.9386	0.7611	0.9647	0.7792	1.0000	0.9509	1.0000	0.8601	0.7912	0.9788	0.9065	1.0000	0.9878	0.8137	0.9237	0.8678	20
Malatya	0.9804	0.7569	0.9903	0.9842	0.9667	0.8515	0.9622	0.8889	0.9681	0.9572	0.9539	0.9492	0.7472	0.9712	0.7908	0.9974	0.9429	1.0000	0.8542	0.8472	0.9704	0.9635	1.0000	1.0000	0.8571	0.9326	0.8990	15
Manisa	1.0000	0.6858	0.8883	0.9104	0.9799	0.9712	0.9277	0.7976	0.8673	0.8982	0.8309	0.9401	0.8556	0.9041	0.8812	0.9813	0.8867	0.8721	0.9533	0.7595	0.9619	0.8430	1.0000	0.9284	0.7166	0.9017	0.8476	21
Mardin	0.8746	0.9219	0.8339	0.8337	0.8900	0.8475	0.8590	0.6556	0.9113	0.9262	0.9088	0.9235	0.7200	0.7712	0.7759	1.0000	0.7348	0.7459	0.7671	1.0000	0.8050	1.0000	0.8550	0.8282	0.8864	0.8374	0.8688	19
Samsun	0.9520	0.7059	1.0000	0.9702	0.9344	0.8477	0.9422	0.8961	0.9149	0.9119	0.9474	0.9386	0.7611	0.9647	0.7792	1.0000	0.9509	1.0000	0.8601	0.7912	0.9788	0.9065	1.0000	0.9878	0.8137	0.9237	0.9154	12
Şanlıurfa	0.8993	0.7974	0.9485	0.9701	0.9803	0.8409	0.9580	0.8549	1.0000	0.9825	0.9334	0.9535	0.7183	0.9501	0.7893	1.0000	0.9079	0.9684	0.8316	0.8990	0.9582	1.0000	0.9745	0.9838	0.8776	0.9167	0.9454	5
Tekirdag	0.9820	0.7614	0.9896	0.9847	0.9687	0.8532	0.9633	0.8871	0.9709	0.9601	0.9570	0.9508	0.7478	0.9705	0.7926	1.0000	0.9415	0.9983	0.8546	0.8519	0.9697	0.9674	1.0000	1.0000	0.8602	0.9334	0.9537	3
Trabzon	0.9820	0.7614	0.9896	0.9847	0.9687	0.8532	0.9633	0.8871	0.9709	0.9601	0.9570	0.9508	0.7478	0.9705	0.7926	1.0000	0.9415	0.9983	0.8546	0.8519	0.9697	0.9674	1.0000	1.0000	0.8602	0.9334	0.9325	8
Van	0.8746	0.9219	0.8339	0.8337	0.8900	0.8475	0.8590	0.6556	0.9113	0.9262	0.9088	0.9235	0.7200	0.7712	0.7759	1.0000	0.7348	0.7459	0.7671	1.0000	0.8050	1.0000	0.8550	0.8282	0.8864	0.8374	0.8256	22
Zonguldak	0.9643	0.7529	1.0000	0.9790	0.9517	0.8611	0.9546	0.8788	0.9446	0.9411	0.9678	0.9583	0.7654	0.9593	0.7929	1.0000	0.9384	0.9838	0.8603	0.8411	0.9726	0.9490	1.0000	0.9899	0.8512	0.9336	0.8924	17

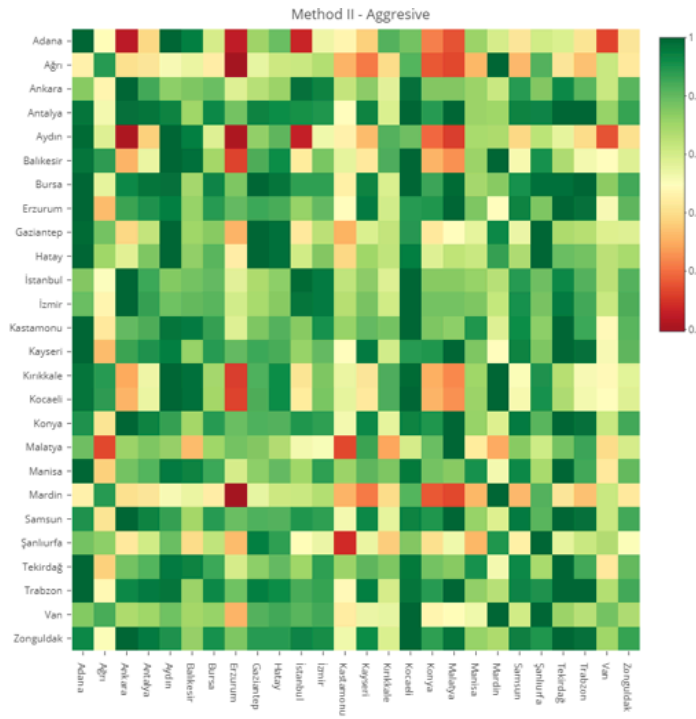


Figure 1. Aggressive Cross-efficiency Heat Map

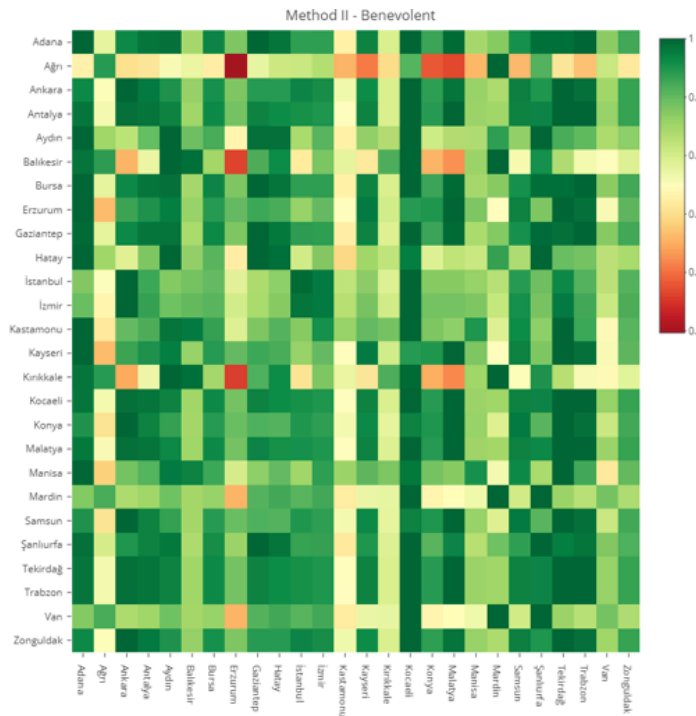


Figure 2. Benevolent Cross-efficiency Heat Map



Table 4. CCR efficiency, Aggressive and Benevolent Cross-efficiency, Maverick Index

Subregion	CCR Efficiency & Rankings		Aggressive Cross-efficiency & Rankings		Maverick Index (Aggressive)	Benevolent Cross-efficiency & Rankings		Maverick Index (Benevolent)
	Efficiency	Ranking	Efficiency	Ranking	Maverick	Efficiency	Ranking	Maverick
Adana	1.0000	1	0.9442	2	0.0591	0.9596	2	0.0421
Ağrı	0.9431	21	0.7853	23	0.2010	0.7864	25	0.1992
Ankara	1.0000	1	0.8361	17	0.1961	0.9129	13	0.0954
Antalya	0.9847	14	0.8709	12	0.1307	0.9258	10	0.0637
Aydın	1.0000	1	0.9400	3	0.0638	0.9525	4	0.0498
Balıkesir	0.9915	12	0.8777	10	0.1298	0.8740	18	0.1344
Bursa	0.9677	18	0.8849	9	0.0935	0.9230	11	0.0484
Erzurum	0.8998	24	0.7378	26	0.2197	0.8015	24	0.1226
Gaziantep	1.0000	1	0.9031	7	0.1073	0.9338	7	0.0709
Hatay	0.9912	13	0.9151	4	0.0831	0.9378	6	0.0569
İstanbul	0.9957	11	0.8353	18	0.1920	0.9036	14	0.1019
İzmir	0.9792	15	0.8930	8	0.0966	0.9300	9	0.0529
Kastamonu	0.8599	26	0.7432	25	0.1570	0.7547	26	0.1394
Kayseri	0.9765	17	0.8427	16	0.1588	0.8984	16	0.0868
Kırıkkale	0.9171	23	0.8107	21	0.1312	0.8069	23	0.1365
Kocaeli	1.0000	1	0.9601	1	0.0416	0.9882	1	0.0120
Konya	0.9509	20	0.8083	22	0.1765	0.8678	20	0.0958
Malatya	1.0000	1	0.8248	20	0.2125	0.8990	15	0.1124
Manisa	0.9533	19	0.8340	19	0.1430	0.8476	21	0.1247
Mardin	1.0000	1	0.8605	14	0.1621	0.8688	19	0.1510
Samsun	0.9788	16	0.8654	13	0.1311	0.9154	12	0.0692
Şanlıurfa	1.0000	1	0.9138	5	0.0944	0.9454	5	0.0578
Tekirdağ	1.0000	1	0.9097	6	0.0993	0.9537	3	0.0486
Trabzon	1.0000	1	0.8765	11	0.1409	0.9325	8	0.0724
Van	0.8864	25	0.7776	24	0.1399	0.8256	22	0.0737
Zonguldak	0.9336	22	0.8483	15	0.1005	0.8924	17	0.0462
<b>Mean</b>	0.9696		0.8576		0.1331	0.8937		0.0871
<b>Min</b>	0.8599		0.7378		0.0416	0.7547		0.0120
<b>Max</b>	1.0000		0.9601		0.2197	0.9882		0.1992
<b>Std. Dev.</b>	0.0395		0.0574		0.0474	0.0580		0.0420

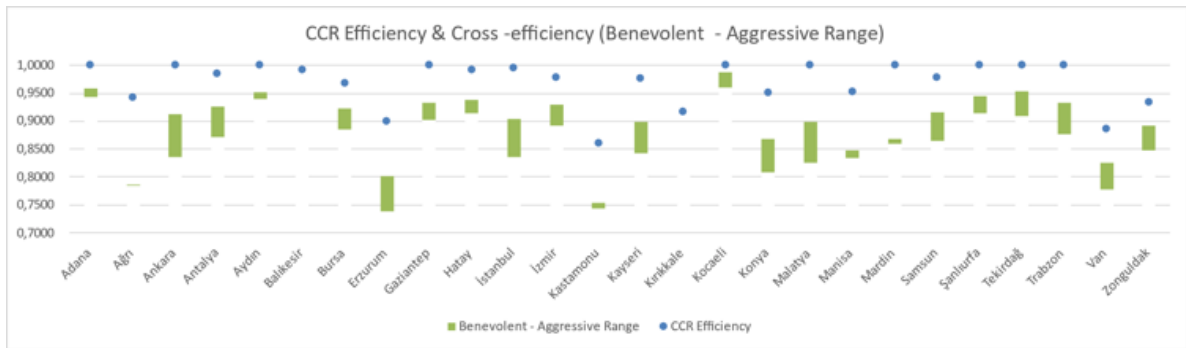


Figure 3. CRS Efficiency and Cross-Efficiencies (Benevolent -Aggressive) Range

The subregions were categorized into four quartiles based on the aggressive and benevolent cross-efficiency scores. The subregions exhibiting the most notable performance (i.e., fourth quartile) in both approaches are Kocaeli, Aydın, Hatay, and Şanlıurfa, respectively. Tekirdağ is included in the fourth quartile only for the benevolent cross-efficiency approach. The subregions of Malatya and Mardin exhibit CRS efficiency; nonetheless, it is important to highlight that they rank in the first quartile, indicating a relatively lower performance in cross-efficiency evaluation. The rankings of these subregions were 20 for Malatya (Aggravate Cross-efficiency) and 19 for Mardin (Benevolent Cross-efficiency).

## DISCUSSION

Monitoring and comparing regional service performance is an essential practice to optimize resource use and allocate resources to avoid the creation of interregional inequities (18). Implementing the health transformation initiative in Turkey has resulted in notable improvements in qualitative and quantitative aspects of healthcare service delivery. Nevertheless, global issues, such as economic crises and pandemics, significantly influence the provision of health services and threaten their long-term financial viability. Hence, it is essential to closely observe health policy outcomes at both provincial and regional levels. Cross-efficiency method produces more realistic

weights for DMU's (31,34,48-50). Using this method in comparing the units under consideration facilitates the identification of more accurate benchmarks through the implementation of peer appraisal.

Within the scope of the study, 26 subregions were examined regarding both efficiency scores and rankings by DEA and cross-efficiency methods. In the score investigation, Kocaeli, Adana, Aydın, Hatay, Şanlıurfa, and Tekirdağ subregions stand out as the most effective units, respectively. On the contrary, Erzurum, Kastamonu, Van, and Ağrı subregions emerge as the worst subregions with scores below 0.80, respectively, and it would be beneficial to scrutinize the relevant subregions. In addition, the Malatya subregion, which is classified as Maverick DMU and included in the first quartile, should also be carefully examined in cross-efficiency evaluation.

Despite being ranked thirteenth and categorized as inefficient in the DEA evaluation, the Hatay subregion ranked fourth in the aggressive model and sixth in the benevolent model when focused on ranking investigation. Similarly, the İzmir subregion was categorized as inefficient and ranked fifteenth, whereas, in the aggressive and beneficent models, it was ranked eighth and ninth, respectively. On the contrary, the Malatya subregion was one of the efficient subregions and ranked first, but its aggressive and benevolent evaluation rankings were twenty-first and fifteenth, respectively. These examples show that the order of subregions varies

considerably with the cross-efficiency method. On the one hand, the DEA efficient subregion is the maverick DMU and regresses to the twentieth rank. On the other hand, inefficient subregions can move up the rankings. The main reason for these changes is the

replacement of self-evaluation by peer-evaluation.

It is planned to integrate the cross-efficiency method with the variance and cluster analysis in future studies.

**Table 5.** Aggressive and Benevolent Rankings by Quartiles

Quartile	CRS - Aggressive Cross-Eff. Rankings	CRS - Benevolent Cross-Eff. Rankings
4	Kocaeli CRS (1) Agg (1)	Kocaeli CRS (1) Ben (1)
	Adana CRS (1) Agg (2)	Adana CRS (1) Ben (2)
	Aydın CRS (1) Agg (3)	Tekirdağ CRS (1) Ben (3)
	Hatay CRS (13) Agg (4)	Aydın CRS (1) Ben (4)
	Şanlıurfa CRS (1) Agg (5)	Şanlıurfa CRS (1) Ben (5)
		Hatay CRS (13) Ben (6)
3	Tekirdağ CRS (1) Agg (6)	Gaziantep CRS (1) Ben (7)
	Gaziantep CRS (1) Agg (7)	Trabzon CRS (1) Ben (8)
	İzmir CRS (15) Agg (8)	İzmir CRS (15) Ben (9)
	Bursa CRS (18) Agg (9)	Antalya CRS (14) Ben (10)
	Balıkesir CRS (12) Agg (10)	Bursa CRS (18) Ben (11)
	Trabzon CRS (1) Agg (11)	Samsun CRS (16) Ben (12)
	Antalya CRS (14) Agg (12)	Ankara CRS (1) Ben (13)
2	Samsun CRS (16) Agg (13)	İstanbul CRS (11) Ben (14)
	Mardin CRS (1) Agg (14)	Malatya CRS (1) Ben (15)
	Zonguldak CRS (22) Agg (15)	Kayseri CRS (17) Ben (16)
	Kayseri CRS (17) Agg (16)	Zonguldak CRS (22) Ben (17)
	Ankara CRS (1) Agg (17)	Balıkesir CRS (12) Ben (18)
	İstanbul CRS (11) Agg (18)	
1	Manisa CRS (19) Agg (19)	Mardin CRS (1) Ben (19)
	Malatya CRS (1) Agg (20)	Konya CRS (20) Ben (20)
	Kırıkkale CRS (23) Agg (21)	Manisa CRS (19) Ben (21)
	Konya CRS (20) Agg (22)	Van CRS (25) Ben (22)
	Ağrı CRS (21) Agg (23)	Kırıkkale CRS (23) Ben (23)
	Van CRS (25) Agg (24)	Erzurum CRS (24) Ben (24)
	Kastamonu CRS (26) Agg (25)	Ağrı CRS (21) Ben (25)
	Erzurum CRS (24) Agg (26)	Kastamonu CRS (26) Ben (26)

**ETHICS COMMITTEE APPROVAL**

\* This study does not require Ethics Committee Approval.

**CONFLICT OF INTEREST**

The authors declare no conflict of interest.

**REFERENCES**

1. Roberts MJ, Hsiao W, Berman P, Reich MR. Getting Health Reform Right. New York: Oxford University Press; 2004. 332 p.
2. Goodwin N. National Health Systems: Overview. In: International Encyclopedia of Public Health. Elsevier; 2008. p. 497-512. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123739605003117>.
3. WHO. The World Health Report Health Systems Financing - The path to universal coverage. Switzerland: WHO; 2010. Available from: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44371/9789241564021\\_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44371/9789241564021_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
4. Şener M, Yiğit V. Sağlık sistemlerinin teknik verimliliği: OECD ülkeleri üzerinde bir araştırma. Süleyman Demirel Üniversitesi Sos Bilim Enst Derg, 2017;1(26):266-90.
5. Atun R, Aydın S, Chakraborty S, Sümer S, Aran M, Gürol I, et al. Universal health coverage in Turkey: enhancement of equity. Lancet. 2013;382(9886):65-99. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014067361361051X>.
6. Akdağ R. Türkiye Sağlıkta Dönüşüm Programı Değerlendirme Raporu (2003-2011). Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı; 2012. 444 p.
7. OECD ve Dünya Bankası. OECD Sağlık Sistemi İncelemeleri: Türkiye. OECD; 2008. 128 p.
8. The Ministry of Health of Türkiye. Health Statistics Yearbook 2021. The Ministry of Health of Türkiye; 2021. 301 p.
9. Nunamaker TR. Measuring routine nursing service efficiency: a comparison of cost per patient day and data envelopment analysis models. Health Serv Res. 1983;18(2 Pt 1):183-208.
10. Sexton TR, Leiken AM, Sleeper S, Coburn AF. The Impact of prospective reimbursement on nursing home efficiency. Med Care. 1989;27(2):154-63. Available from: <http://journals.lww.com/00005650-198902000-00006>.
11. Ozgen H, Ozcan YA. A national study of efficiency for dialysis centers: An examination of market competition and facility characteristics for production of multiple dialysis outputs. Health Serv Res. 2002;37(3):711-32.

12. Lynch JR, Ozcan YA. Hospital closure: An efficiency analysis. *Hosp Heal Serv Adm.* 1994;39(2):205-20.
13. Sherman HD. Hospital efficiency measurement and evaluation empirical test of a new technique. *Med Care*, 1984;22(10):922-38.
14. Konca M. OECD ülkelerinin ulusal sağlık sistemlerinin zamana dayalı performansının değerlendirilmesi. *Hacettepe Üni Derg*; 2021.
15. Hadad S, Hadad Y, Simon-Tuval T. Determinants of healthcare system's efficiency in OECD countries. *Eur J Heal Econ.* 2013;14(2):253-65.
16. Çayırtepe Z, Esatoğlu AE, Aral A, Kavuncubaşı Ş. Coronary Artery Bypass Graft Surgery Clinical Quality; A Network-DEA approach. *Qeios.* 2023;1-22.
17. Pai CW, Ozcan YA, Jiang HJ. Regional variation in physician practice pattern: An examination of technical and cost efficiency for treating sinusitis. *J Med Syst.* 2000;24(2):103-17.
18. Abolghasem S, Toloo M, Amézquita S. Cross-efficiency evaluation in the presence of flexible measures with an application to healthcare systems. *Health Care Manag Sci [Internet].* 2019;22(3):512-33. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10729-019-09478-0>.
19. Flokou A, Kontodimopoulos N, Niakas D. Employing post-DEA Cross-evaluation and cluster analysis in a sample of Greek NHS Hospitals. *J Med Syst [Internet].* 2011;35(5):1001-14. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10916-010-9533-9>.
20. Adejoh FO, Majahar M, Ismail MT. Data envelopment analysis cross-efficiency of primary health care in Lagos metropolis, Nigeria. *Sci African [Internet].* 2022;17:e01336. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2022.e01336>.
21. Wang M. Economic performance evaluation of community health service centers: a DEA-based cross-efficiency study. *Environ Sci Pollut Res [Internet].* 2022;30(7):18660-73. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23048-y>.
22. Costantino N, Dotoli M, Epicoco N, Falagario M, Sciancalepore F. Using cross-efficiency fuzzy data envelopment analysis for healthcare facilities performance evaluation under uncertainty. *Proc - 2013 IEEE Int Conf Syst Man, Cybern SMC 2013.* 2013;912-7.
23. Yaya S, Xi C, Xiaoyang Z, Meixia Z. Evaluating the efficiency of China's healthcare service: A weighted DEA-game theory in a competitive environment. *J Clean Prod [Internet].* 2020;270:122431. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122431>.
24. Zare H, Tavana M, Mardani A, Masoudian S, Kamali Saraji M. A hybrid data envelopment analysis and game theory model for performance measurement in healthcare. *Health Care Manag Sci [Internet].* 2019 Sep;22(3):475-88. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10729-018-9456-4>.
25. Torun N. Veri Zarflama Analizinin Bir Uzantısı Olarak Çapraz Etkinlik Değerlendirmesi. In: Kaçak H, editor. *Sağlık Hizmetlerinde Performans Yönetimi.* Ankara: Siyasal Kitabevi; 2023. p. 105-33.
26. Kaçak H, Yıldırım S. Veri zarflama analizi çapraz etkinlik yaklaşımı ile eğitim ve araştırma hastaneleri performanslarının değerlendirilmesi. In: 3. Uluslararası Sağlık Bilimleri ve İnovasyon Kongresi. Ankara; 2021.
27. Sherman HD, Zhu J. *Service Productivity Management: Improving Service Performance Using Data Envelopment Analysis (DEA)*. New York: Springer Science + Business Media; 2006. 343 p. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=econ&AN=0889140>

28. Ozcan YA, Tone K. Health Care Benchmarking and Performance Evaluation An Assessment using Data Envelopment Analysis (DEA). International Series in Operations Research & Management Science. 2014. 329 p.
29. Avkiran NK. Productivity Analysis in the Service Sector with Data Envelopment Analysis. Vol. 3, N K Avkiran. 2006. 423 p.
30. Rowena J, Peter CS, Andrew S. Measuring Efficiency in Health Care Analytic Techniques and Health Policy. Cambridge University Press. New York: Cambridge University Press; 2006. 263 p.
31. Wu J, Chu J, Sun J, Zhu Q, Liang L. Extended secondary goal models for weights selection in DEA cross-efficiency evaluation. *Comput Ind Eng.* 2016;93:143-51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cie.2015.12.019>.
32. Charnes A, Cooper WW, Rhodes E. Measuring the efficiency of decision making units. *Eur J Oper Res.* 1978;2(6):429-44.
33. Sexton TR, Silkman RH, Hogan AJ. Data envelopment analysis: Critique and extensions. *New Dir Progr Eval.* 1986;(32):73-105.
34. Doyle J, Green R. Efficiency and cross-efficiency in DEA derivations, meanings and uses. *J Oper Res Soc.* 1994;45(5):567-78.
35. Liu ST. A DEA ranking method based on cross-efficiency intervals and signal-to-noise ratio. *Ann Oper Res.* 2018;261(1-2):207-32.
36. Hollingsworth B. The measurement of efficiency and productivity of health care delivery. *Health Econ.* 2008;17(10):1107-28. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/hec.1391>.
37. Zhu J. Quantitative Models for Performance Evaluation and Benchmarking. 2nd ed. Operations Research. Cham: Springer International Publishing; 2014. 420 p. (International Series in Operations Research & Management Science; vol. 213). Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-06647-9>.
38. Cooper WW, Seiford LM, Zhu J, Lawrence M. Seiford, Zhu J, Hillier FS. Handbook on Data Envelopment Analysis. Cooper WW, Seiford LM, Zhu J, editors. Boston, MA: Springer US; 2011. 524 p. (International Series in Operations Research & Management Science; vol. 164). Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4419-6151-8>.
39. Ashkiani S. Mavericks Revisited: A New Index to Identify Maverick Units in Data Envelopment Analysis. 2019.
40. Lim S. Context-dependent data envelopment analysis with cross-efficiency evaluation. *J Oper Res Soc.* 2012;63(1):38-46. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1057/jors.2011.29>.
41. Pessanha JFM, Marinho A, Rezende SM, Laurencel L da C, Amaral MR dos S. DEA Cross-efficiency in the R program DEA Cross-efficiency in the R program. 2016.
42. Lim S. Minimax and maximin formulations of cross-efficiency in DEA. *Comput Ind Eng.* 2012;62(3):726-31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cie.2011.11.010>.
43. Kacak H. Effects of public health services on health systems performance: An application with dynamic network data envelopment analysis. *Turk Hij Den Biyol Derg.* 2022;79(3):531-48. Available from: [https://jag.journalagent.com/z4/download\\_fulltext.asp?pdire=turkhiyjen&plng=tur&un=THD BD-70194](https://jag.journalagent.com/z4/download_fulltext.asp?pdire=turkhiyjen&plng=tur&un=THD BD-70194).

44. Khushalani J, Ozcan YA. Are hospitals producing quality care efficiently? An analysis using Dynamic Network Data Envelopment Analysis (DEA). *Socioecon Plann Sci*. 2017;60:15-23. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.seps.2017.01.009>.
45. Tiemann O, Schreyögg J. Changes in hospital efficiency after privatization. *Health Care Manag Sci*. 2012;15(4):310-26.
46. Chou T-H, Ozcan YA, White KR. Technical and scale efficiencies of Catholic hospitals: Does a system value of stewardship matter? In: Tãnfani E, Testi A, editors. *International Series in Operations Research and Management Science*. Milano: Springer Milan; 2012. p. 83-101. (International Series in Operations Research & Management Science; vol. 173). Available from: [http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-88-470-2321-5\\_6](http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-88-470-2321-5_6).
47. Zakowska I, Godycki-Cwirko M. Data envelopment analysis applications in primary health care: a systematic review. *Fam Pract*. 2019;20(20):1-7. Available from: <https://academic.oup.com/fampra/advance-article/doi/10.1093/fampra/cmz057/5586691>.
48. Carrillo M, Jorge JM. Integrated approach for computing aggregation weights in cross-efficiency evaluation. *Oper Res Perspect*. 2018;5:256-64. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S22147160183001234>.
49. Örkücü HH, Özsoy VS, Örkücü M, Bal H. A neutral cross efficiency approach for basic two stage production systems. *Expert Syst Appl*. 2019;125:333-44. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0957417419300582>.
50. Wang Y-M, Chin K-S. A neutral DEA model for cross-efficiency evaluation and its extension. *Expert Syst Appl*. 2010;37(5):3666-75. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0957417409008902>.



## Evaluation of *Brucella* pericarditis cases by pooled analysis method

### *Brucella* perikarditi olgularının havuz analiz yöntemiyle değerlendirilmesi

Oğuz EVLİCE<sup>1</sup> (ID), Mustafa YILMAZ<sup>2</sup> (ID), Sevil ALKAN ÇEVİKER<sup>3</sup> (ID), Uğur KÜÇÜK<sup>4</sup> (ID)

#### ABSTRACT

**Objective:** Brucellosis is one of the most frequent zoonotic infectious diseases and is a global public health concern, particularly in developing countries. Brucellosis causes systemic symptoms and can affect different parts of the body. Brucellar pericarditis is a rare involvement of the cardiovascular system. This study aimed to investigate the clinical outcomes of *Brucella* pericarditis cases.

**Methods:** A pooled analysis study was conducted by searching four international online databases with the terms "*Brucella*" and "pericarditis" and their synonyms. The full texts or abstracts were screened using these keywords. The publications were examined in terms of the age and gender of cases, publication year and country, additional diagnosis, diagnostic methods, treatments, and outcomes.

**Results:** The study included 25 cases (14 males, 56%), with a mean age of  $38.84 \pm 9.7$  (12-79) years. Systemic findings were present in 17 (68%) patients, and 17 (68%) had a cardiac presentation. 10 (40%) patients had retrosternal pain/ chest pain, 10 (40%) patients had pericardial frontman, and five (%10) cases had tachycardia. The most commonly used diagnostic method

#### ÖZET

**Amaç:** Bruselloz en sık görülen zoonotik enfeksiyon hastalıklarından biridir ve özellikle gelişmekte olan ülkelerde halk sağlığı sorunlarından biridir. Bruselloz sistemik semptomlara neden olabilmekte ve vücudun farklı bölgelerini etkileyebilmektedir. *Brucella* perikarditi kardiyovasküler sistemin seyrek görülen bir tutulumu olup bu çalışmada brusellozun perikardial tutulumunun klinik sonuçlarının araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Dört uluslararası çevrimiçi veri tabanının tam metin ve özetleri "*Brucella*" ve "perikardit" anahtar kelimeleri ile tarandı. Olguların yaş ve cinsiyet, yayın yılı ve ülkesi, tanı yöntemleri, aldıkları tedaviler ve klinik sonuçları havuz analizi yöntemiyle incelendi. İstatistiksel değerlendirmede tanımlayıcı istatistikler kullanıldı.

**Bulgular:** Çalışmaya yaş ortalaması  $38.84 \pm 9.7$  (12-79) yıl olan 25 olgu (14 erkek, %56) dahil edildi. Hastaların 17 (%68)'sinde sistemik bulgular mevcuttu ve 17 (%68)'si kardiyak belirtilerle başvurmuştu. On (%40) hastada retrosternal ağrı/göğüs ağrısı, 10 (%40) hastada perikardiyal frotman ve beş (%10) olguda taşikardi saptandı. En sık kullanılan tanı yöntemi

<sup>1</sup>Turkish Ministry of Health, General Directorate of Public Health, Department of Communicable Diseases, Ankara

<sup>2</sup>Evliya Çelebi Training and Research Hospital, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Kütahya

<sup>3</sup>Çanakkale Onsekiz Mart University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Çanakkale

<sup>4</sup>Çanakkale Onsekiz Mart University Faculty of Medicine, Department of Cardiology, Çanakkale



İletişim / Corresponding Author : Oğuz EVLİCE

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Adnan Saygun cad. No: 55 Sıhhiye / Ankara - Türkiye

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

Geliş Tarihi / Received : 17.04.2023

Kabul Tarihi / Accepted : 01.09.2023

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.20633

Evlince O, Yılmaz M, Alkan Çeviker S, Küçük U. Evaluation of *Brucella* pericarditis cases by pooled analysis method.

Türk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(3): 345 - 354

was a serological test (96%), and a positive blood culture result was determined in 64%. The Rose Bengal test was performed in seven cases, of which six had positive results. Complete recovery was reported for 22 cases, and death in two patients.

**Conclusion:** Although brucellosis is less common in many developed countries, it should be kept in mind as a differential diagnosis in endemic areas. Brucellosis is a rare cause of pericarditis and requires specific treatment. Standard tube agglutination tests are highly sensitive and specific in the diagnosis of brucellosis. This non-invasive, practical test should be used in the differential diagnosis of pericarditis.

**Key Words:** *Brucella*, brucellosis, brucellar pericarditis, pericarditis, cardiovascular system

serolojik testlerdi (%96) ve bunu kan kültürü pozitifliği takip ediyordu (%64). Rose Bengal testi yedi hastaya yapılmış olup altısında pozitif. İyileşme 22 (%88) hasta için bildirilirken iki (%8) hasta kaybedilmişti.

**Sonuç:** Bruselloz nadir görülen bir perikardit nedenidir ve özgün tedavi gerektirir. Bruselloz birçok gelişmiş ülkede sık görülmesine rağmen, endemik bölgelerde ayırıcı tanıda akılda tutulmalıdır. Standart tüp aglütinasyon testleri tanıda oldukça duyarlı ve özgündür. Bu non-invaziv, pratik test perikarditin ayırıcı tanısında kullanılmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Brusella, bruselloz, brusella perikarditi, perikardit, kardiyovasküler sistem

## INTRODUCTION

Brucellosis is a bacterial zoonosis transmitted directly or indirectly to humans from infected animals. Brucellosis is observed more frequently in developing countries and has been practically eradicated in developed countries (1). As *Brucella* spp. causes systemic infections, it should be considered in the differential diagnosis of many diseases (2,3). In endemic areas, it may be challenging to distinguish brucellosis from many other causes of fever. Osteoarticular, genitourinary, or hematological involvement are the most frequent complications of brucellosis, whereas cardiac involvement is a rare presentation of this disease. (4,5). Infective endocarditis (IE) (natural or prosthetic valves), myocarditis and pericarditis are rare cardiac involvements in patients with brucellosis, of which infective endocarditis is the most common type (5,6). Brucellar pericarditis is an extremely rare cardiovascular system involvement (5-7).

Although several recent studies have evaluated cardiovascular involvements of *Brucella* infections, the management and outcomes of brucellar pericarditis have not yet been discussed in detail. This study aimed to investigate cases of pericardial involvement of brucellosis and highlight key points in the literature through a discussion of the clinical characteristics and management of previously published brucellar pericarditis cases.

## MATERIAL and METHOD

A search was made of four online international databases (Google Scholar, PubMed/Medline, Web of Science, and Scopus) for studies related to brucellar pericarditis published between January 1, 1950, and August 15, 2021. The database search was performed in the English language. The full texts (or the abstract when the full text was not available) were screened with the keywords, '*Brucella*' or '*Brucella* spp.' and 'pericarditis' or 'pericardial effusion' or 'cardiac

tamponade'. Publications reporting pediatric cases younger than 12 years were excluded. A total of 19 publications that were relevant to the topic were obtained from the literature search (Table 1) (8-26). The acquired data were analyzed and presented as mean standard deviation values, numbers, and

percentages using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows, version 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). In the statistical evaluation, descriptive statistics were used. Because the study was designed as a literature review, ethics committee approval was not necessary.

**Table 1.** Summary of published cases

No of cases	Author/Country/year	Age/Gender	Cardiac presentation	Microbiological diagnostic method and results	Therapy /duration	Outcome
1	Altas et al / Turkey/2018 (8)	12/F	Isolated pericarditis, pericardial effusion	Rose Bengal: + STA:+ Blood culture: Negative	Doxycycline rifampicin (for 6 weeks) and streptomycin (for two weeks)	Complete recovery
1	Chevalier et al/ France/1996 (9)	21/?	Pancarditis	Rose Bengal: NI* STA:NI* Blood culture: Positive ( <i>B.melitensis</i> )	Doxycycline and rifampicine (1 week)	Exitus
1	Chocarro et al/ Spain /2002 (10)	17/M	Isolated pericarditis	Rose Bengal: + STA:+ Blood culture: Positive ( <i>B.melitensis</i> )	Doxycycline +rifampicin+ TMP/SXT plus acetyl salicylic acid/ (8 weeks)	Complete recovery
1	Demirdağ et al/ Turkey /2005 (11)	50/F	Isolated pericarditis	Rose Bengal:+ STA:+ Blood culture: Positive ( <i>B.melitensis</i> )	Doxycycline+ rifampicin (6 weeks)	Complete recovery
1	Garcia et al/ Spain/2004 (12)	29/M	Myopericarditis	Rose Bengal:- STA:+ Blood culture: Positive ( <i>B.melitensis</i> )	Streptomycin +Doxycycline (6 weeks)	Complete recovery
2	Gatselis et al/ Greece/2011 (13)	17/M	Myopericarditis	Rose Bengal :NI STA:+ Blood culture: Positive ( <i>Brucella spp.</i> )	Doxycycline +rifampicin (12 weeks) PLUS streptomycin (3 weeks)	Complete recovery
		34/M	Isolated pericarditis	Rose Bengal:NI STA:+ Blood culture: Positive ( <i>Brucella spp.</i> )	Doxycycline +rifampicin (12 weeks)	Complete recovery
	Gomez-Huelgas et al /Spain/1986 (14)	39/F	Isolated pericarditis	Rose Bengal :NI Coombs:- Blood culture: positive ( <i>B.melitensis</i> )	Doxycycline (4 weeks) + Streptomycin (2 weeks)	Complete recovery
2	Hatipoglu et al. / Turkey/2004 (15)	62/F	Isolated pericarditis	Rose Bengal:NI STA:+ Blood culture: negative Brucella SAT positivity in pericardial fluid	Gentamicin (2 weeks) + doxycycline and ciprofloxacin (6 weeks)	Complete recovery
		64/F	Isolated pericarditis	Rose Bengal: NI STA:+ Blood culture: Positive ( <i>B.melitensis</i> )	Doxycyclin+ ofloxacin and rifampicin (24 weeks)	Complete recovery

Table 1 (cont). Summary of published cases

No of cases	Author/Country/year	Age/Gender	Cardiac presentation	Microbiological diagnostic method and results	Therapy /duration	Outcome
1	Karagiannis et al. / Greece/2003 (16)	55/M	Cardiac tamponade	Rose Bengal: NI STA:+ IgG and IgA +	Doxycycline (6 weeks), streptomycin (2 weeks) and indomethacin (2 weeks)	Complete recovery
4	Kayaet al. / Turkey/2013 (17)	79/F	Isolated pericarditis	Rose Bengal: NI STA:+ Blood culture: Negative	Doxycycline+ rifampicin (8 weeks)	Complete recovery
		51/F	Isolated pericarditis	Rose Bengal: NI STA:+ Blood culture: Positive ( <i>Brucella melitensis</i> )	Doxycycline + rifampicin	Lost to follow-up
		33/M	Isolated pericarditis	Rose Bengal: NI STA:+ Blood culture: Negative	Doxycycline+ rifampicin (8 weeks) and streptomycin (3 weeks)	Complete recovery
		51/F	Isolated pericarditis	Rose Bengal: NI STA:+ Blood culture: Negative	Doxycycline + rifampicin (8 weeks) and streptomycin (2 weeks)	Complete recovery
1	Khorasani et al. / Iran/2014 (18)	22/M	Myopericarditis	Rose Bengal: NI STA:+ Blood culture: <i>Brucella</i> spp.	Co-trimoxazole, rifampin doxycycline (12 weeks)	Complete recovery
1	Pedro et al. / Brazil/2012 (19)	31/M	Isolated pericarditis	Rose Bengal:+ Brucella IgG:-and IgM :+ STA: NI Blood culture: <i>Brucella</i> spp.	Doxycycline+ rifampicin (6 weeks)	Complete recovery
1	Sabzi et al. / Iran/2017 (20)	50/F	Isolated pericarditis	Rose Bengal: NI Wright test titer, Coombs wright and 2 mercaptoethanol (2ME): positive Blood culture: positive ( <i>B. melitensis</i> )	Doxycycline + Rifampicin (6 weeks) and streptomycin (3 weeks) PLUS ibuprofen (6 weeks)	Complete recovery
1	Sarı et al. / Turkey/2012 (21)	25/M	Constructive pericarditis and cardiac tamponade	Rose Bengal:NI STA:+ Brucella IgG and IgM :+ Blood culture:NI Brucella SAT positivity in pericardial fluid	Doxycycline, rifampicin (8 weeks) PLUS prednisolone (2 weeks)	Complete recovery
1	Sirmatel/ Turkey/1993 (22)	?/M	Isolated pericarditis	Rose Bengal:NI STA:+ Blood culture:NI pericardial fluid culture: positive ( <i>B. melitensis</i> )	Doxycycline + rifampicin (8 weeks)	Complete recovery

Table 1 (cont). Summary of published cases

No of cases	Author/Country/year	Age/ Gender	Cardiac presentation	Microbiological diagnostic method and results	Therapy /duration	Outcome
1	Soudbakhsh et. al / Iran/2011 (23)	35/M	Isolated pericarditis	Rose Bengal :NI STA:+ 2-Mercaptoethanol, anti- <i>Brucella</i> IgG and IgM :+ Blood culture: negative bone marrow and pleural fluid cultures: negative	Doxycycline+ rifampicin (12 weeks) and streptomycin (2 weeks)	Complete recovery
1	Tatlı Kısıkıs/ Turkey/2020 (24)	19/M	Isolated pericarditis	Rose Bengal :+ Coombs:+ Blood culture: positive ( <i>Brucella spp.</i> )	Doxycycline + rifampicin TMP/SXT and ibuprofen (12 weeks)	Complete recovery
2	Ugartemendia et al./ Spain/1985 (25)	48/F	Pericardial effusion+ cardiac tamponade	Rose Bengal:NI STA:+ Blood culture: positive ( <i>B. melitensis</i> )	TMP/SXT + streptomycin, tetracycline (3 weeks) PLUS prednisone (6 weeks)	Complete recovery
		52/M	Pericardial effusion+cardiac tamponade	Rose Bengal:NI STA:+ Blood culture: positive ( <i>B. melitensis</i> )	TMP/SXT + streptomycin, etracycline, and rifampicin (3 weeks)	Exitus
1	Zorlu et al. / Turkey /2017 (26)	50/M	Isolated pericarditis	Rose Bengal :+ STA:+ anti- <i>Brucella</i> IgG and IgM :+ Blood culture: positive ( <i>Brucella spp.</i> )	Doxycycline +rifampicin (12 weeks)	Complete recovery

ECG:Electrocardiography, PE: Physical examination, EF: Ejection fraction, NI: no information, STA : standard tube agglutination, TTE: Transthoracic echocardiography, TEE: Trans Esophageal Echocardiography, TMP/SXT:Trimetoprim/sulfametoksazol

## RESULTS

The evaluation comprised 19 publications reporting 25 cases, including 14 (56%) males and 11 (44%) females with a mean age of  $38.84 \pm 9.7$  years. Concomitant systemic brucellosis was determined in 72.2% of the patients, and 68% had a cardiac presentation. Retrosternal pain/chest pain (40%) and tachycardia (40%) were the most common symptoms of brucellar pericarditis. The most commonly used diagnostic method was a serological test (96%), and blood culture positivity was determined in 64% (*Brucella melitensis* in 10 cases, *Brucella spp.* in 6 cases). The Rose Bengal test was performed in seven cases, of which six had positive results. Complete

recovery was recorded in 22 cases, mortality developed in two, and one patient was lost to follow-up. The results of the analyses of the cases are shown in Table 2.

## DISCUSSION

Cardiovascular involvement of brucellosis includes endocarditis, myocarditis, pericarditis, and mycotic aneurysms (7,20,27,28). Endocarditis is the most common cardiovascular complication, accounting for approximately 1% of all brucellosis cases, and mortality in brucellosis is mainly attributed to endocarditis (1,29). The clinical manifestations of brucellar pericarditis range from no symptoms or

Table 2. Pooled analyses of published cases

	n (=25)	%
Gender (male)	14	56
<b>Cardiac presentation* (two different presentations in some cases)</b>		
Isolated brucellar pericarditis	17	68
Cardiac tamponade	4	16
Myopericarditis	3	12
Pancarditis	1	4
Constructive pericarditis	1	4
<b>Concomitant clinical findings</b>		
Systemic brucellosis	17	68
Lobar pneumonia	1	4
Pleural effusion	3	12
Lomber pain	1	4
Paraspinal abscess	1	4
Brucellosis and tuberculosis co-infection	1	4
Swelling in the testis	1	4
NI	3	12
none	2	8
<b><i>Brusella spp.</i> isolation of blood cultures</b>		
<i>B. melitensis</i>	10	40
<i>Brucella spp.</i>	6	24
<b>Laboratory tests</b>		
Blood cultures	22	88
Pericardial fluid cultures	1	4
Serological testes	24	96
Pericardial fluid serological tests	2	8
Histopathological examination	1	4
<b>PE findings</b>		
NI		
Retrosternal pain/ chest pain	5	20
Pericardial frotman	10	40
Tachycardia	5	20
	10	40
<b>ECG findings</b>		
ST elevation	2	8
NI	8	32
T wave abnormalities (negative t wave in leads, ST elevation)	6	24
Normal	3	12
Atrial fibrillation	1	4
Low QRS complexes	2	8
<b>TTE findings</b>		
Pericardial effusion	21	84
Abscess formation	1	4
<b>Additional therapies</b>		
Acetyl salicylic acid	2	8
İndomethacin	1	4
Corticosteroids	2	8
<b>Outcome</b>		
Complete recovery	22	88
Exitus	2	8
Lost to follow-up	1	4

PPE: Physical examination, ECG:Electrocardiography, EF: Ejection fraction, NI: No information, TTE: Transthoracic echocardiography

mild symptoms to cardiac tamponades (17,19). In this pooled analysis, 17 (%68) isolated brucellar pericarditis, four (%16) cardiac tamponade, three (%12) myopericarditis, one (%4) pancarditis, one (%4) constructive pericarditis were found.

Pericarditis in the absence of concomitant endocarditis is extremely rare, and there were seen to be only 25 cases in four international databases.

The highest number of cases was reported from Türkiye with 12 cases. In a study from Spain, isolated brucellar pericarditis was detected in only one of 530 cases. It was reported that of the 530 brucellosis cases, 1.5% (8/530) showed cardiac involvement, and only one patient (0.2%) was diagnosed with pericarditis without concurrent endocarditis (30). In another study, Gür et al. reported endocarditis with concomitant myocarditis and pericarditis in only two of a total of 283 cases (31). As the myocardium and pericardium are contiguous, brucellar myocarditis and pericarditis may coexist. Myocarditis clinical manifestations range from subclinical disease (asymptomatic ECG abnormalities) to fulminant heart failure. It should be considered that there may be ECG abnormalities and global left ventricular dysfunction on echocardiography (5,28,32,33).

Two theories have been proposed regarding the development mechanism of brucellar pericarditis. Cardiac damage may occur due to the direct effect of *Brucella* infection on pericardial tissue (demonstrated in pericardial fluid obtained by pericardiocentesis), or immune complexes may be involved (25).

The pericardial involvement of brucellosis should be differentially diagnosed from viral, pyogenic, tuberculous, and fungal pericarditis. Most enteroviral myocarditis or pericarditis cases occur in newborns, adolescents, or young adults. Pyogenic pericarditis is usually secondary to cardiothoracic operations as an extension of the infection from the lungs or pleural cavities. Tuberculous pericarditis is a common cause of chronic pericardial effusion, especially in developing countries where active tuberculosis and HIV are endemic (34-36).

The diagnosis of brucellar pericarditis is based on the clinical and epidemiological characteristics of the disease, the patient's symptoms, echocardiography and computed tomography findings, results of serological tests, and isolation of the microorganism, especially by blood culture analysis (30,31). Retrosternal pain, fever, and dyspnea are common symptoms (20,30). Echocardiography is the most widely used imaging technique, as it is sensitive, simple, non-invasive, and allows localization and estimation of the quantity of pericardial fluid (37). Pericardiocentesis may yield an etiological agent, but it is negative in the majority of patients. When an invasive procedure is necessary for diagnosis, pericardiotomy with biopsy and drainage is preferable to pericardiocentesis because of the higher diagnostic rate (20,38). The standard tube agglutination test (STA) is the most frequently utilized test for detecting *Brucella* antibodies. STA in the diagnosis of brucellosis are very sensitive and specific. Clinical evidence and agglutination test values  $\geq 1/160$ , or Coombs' test with a fourfold increase in agglutination, were used as a diagnosis of brucellosis (39). This non-invasive, practical test should be used in the differential diagnosis of pericarditis.

There have been no reports in the literature of any specific, evidence-based therapeutic regimen for brucellar pericarditis in the absence of endocarditis. Brucellar endocarditis almost always requires surgery plus antibiotic treatment, while surgery is not indicated in brucellar pericarditis unless tamponade develops. Brucellar pericarditis is treated with at least two drugs (an aminoglycoside, a tetracycline, and/or rifampin), and treatment is usually applied for at least six weeks (13,40).

Although brucellosis is less common in many developed countries, it should be considered a differential diagnosis in endemic areas. Brucellosis should be considered in the etiology of pericarditis. Agglutination tests should be used in the differential diagnosis of pericarditis. Further studies are needed to evaluate and discuss the management and treatment of this disease.



## ETHICS COMMITTEE APPROVAL

\* This study does not require Ethics Committee Approval.

## CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

## REFERENCES

1. Akpınar O. Historical perspective of brucellosis: a microbiological and epidemiological overview. *Infez Med*, 2016;24(1):77-86.
2. Saad MA, Ahmed ES, Alghamdi FA, Fahmy YR, Amin YE, Saad AA. Acute brucellosis associated with isolated splenic and left gastric artery vasculitis and acute ischemic bowel infarction. A systematic review of the most recent cases. *Infez Med*, 2021;29(3):469-74.
3. Denk A, Özden M. A case of brucellosis presenting with acute hepatitis and bicytopenia. *Infez Med*, 2015 Jun;23(2):178-81.
4. Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human brucellosis. *Lancet Infect Dis*, 2007;7(12):775-86.
5. Dean AS, Crump L, Greter H, Hattendorf J, Schelling E, Zinsstag J. Clinical manifestations of human brucellosis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*, 2012;6(12):e1929.
6. Guler S, Kokoglu OF, Ucmak H, Gul M, Ozden S, Ozkan F. Human brucellosis in Turkey: different clinical presentations. *J Infect Dev Ctries*, 2014;8(5):581-8.
7. Koruk ST, Erdem H, Koruk I, Erbay A, Tezer-Tekce Y, Erbay AR, et al. Management of *Brucella* endocarditis: results of the Gulhane study. *Int J Antimicrob Agents*, 2012;40(2):145-50.
8. Altas MH, Karli A, Sensoy G, Koken O, Yurek B, Baysal K. A case of brucellosis presenting with pericardial and pleural effusion. *ClinRespir J*, 2018;12(1):285-7.
9. Chevalier P, Bonnefoy E, Kirkorian G, Touboul P. Pancardite brucellienned 'évolution fatale (*Brucella* pancarditis with fatal outcome). *Presse Med*, 1996;13;25(13):628-30.
10. Chocarro Martínez A, González López A, Zuazola P, García García I. Pericarditis brucelar [*Brucella* pericarditis]. *An Med Intern*, 2002;19(1):50-1.
11. Demirdağ K, Özden M, Özbay Y, Yüce P, Kalkan A. A case of acute brucellosis with pericardial involvement. *J Klimik*, 2005;18:77-9.
12. García de Lucas MD, Castillo Domínguez JC, Martínez González MS. Miopericarditispor *Brucella* (*Brucella* myopericarditis). *Rev Esp Cardiol*, 2004 Jul;57(7):709.

13. Gatselis NK, Makaritsis KP, Gabranis I, Stefos A, Karanikas K, Dalekos GN. Unusual cardiovascular complications of brucellosis presenting in two men: two case reports and a review of the literature. *J Med Case Rep*, 2011;5:22.
14. Gomez-Huelgas R, de Mora M, Porras JJ, Nuño E, SanRoman CM. Brucella and acute pericarditis: fortuitous or causal association?. *J Infect Dis*, 1986;154(3):544.
15. Hatipoglu CA, Yetkin A, Ertem GT, Tulek N. Unusual clinical presentations of brucellosis. *Scand J Infect Dis*, 2004;36(9):694-7.
16. Karagiannis S, Mavrogiannaki A, Chrissos D, Papatheodoridis GV. Cardiac tamponade in Brucella infection. *Hell J Cardiol*, 2003; 44: 222 -5.
17. Kaya S, Eskazan AE, Elaldi N. Brucellar pericarditis: a report of four cases and review of the literature. *Int J Infect Dis*, 2013;17(6):e428-e432.
18. Khorasani AA, Farrokhnia M. A Case of Myopericarditis: Very Rare Complication of Brucellosis, *Arch Clin Infect Dis*, 2014; 9(4):e18256.
19. Pedro FL, Franchini FP, Wildner LM. Brucellosis presenting with pericarditis: case report and literature review. *Case Rep Infect Dis*, 2013;2013:796437.
20. Sabzi F, Faraji R. *Brucella* pericarditis: A forgotten cause of chest pain. *Caspian J Intern Med*, 2017;8(2):116-8.
21. Sarı T, Temoçin F, Atak R, Oral B, Tülek N. Bruselloz ve tüberküloz koinfeksiyonunun olabileceği perikardit: Olgu sunumu. *Flora İnfek Hast Klin Mik Derg*, 2012; 17(3): 137- 40.
22. Sirmatel Ö, Elbeyli L, Sirmatel F, Ergüler E, Bayram M, et al. Bruselloza bağlı gelişen perikardit olgusu. *Erciyes Tıp Derg*,1993: 15 (1); 98-101.
23. Soudbakhsh A, Roham M, SeyedAlinaghi S, EmadiKochak H, McFarland W. Pleural and pericardial effusions: rare presentations of brucellosis, Iran. *ActaMed Iran*, 2011;49(5):325-6.
24. Tatlı Kış T, Kış M. A rare etiology of pericarditis, *Brucella* spp. *Anat Clin J Med Sci*, 2020; 25(3): 285-8.
25. Ugartemendía MC, Curós-Abadal A, Pujol-Rakosnik M, Pujadas-Capmany R, Escrivá-Montserrat E, Jané-Pesquer J. *Brucella melitensis* pericarditis. *Am Heart J*, 1985;109(5 Pt 1):1108.
26. Zorlu G, Uyar S, Ozer H, Esin M, Kir S, Tokuc A, et al. A Case of Brucellosis with a Rare Complication: Pericarditis. *Eur J Case Rep Intern Med*, 2017 27;4(1):000471.
27. Wendt S, Lippmann N, Fahnert J, Rodloff AC, Lübbert C. *Brucella* related myocarditis. *Int J Infect Dis*, 2018;66:126-7.
28. Lagadinou M, Mplani V, Velissaris D, Davlouros P, Marangos M. Myocarditis caused by *Brucella melitensis* in the absence of endocarditis: Case report and review of the literature. *Case Rep Med*, 2019;2019:3701016.
29. Calik S, Gokengin AD. Human brucellosis in Turkey: a review of the literature between 1990 and 2009. *Turk JMed Sci*, 2011;41:549-55.
30. Colmenero JD, Reguera JM, Martos F, Sánchez-De-Mora D, Delgado M, Causse M, et al. Complications associated with *Brucella melitensis* infection: a study of 530 cases [published correction appears in *Medicine (Baltimore)* 1997 Mar;76(2):139]. *Medicine (Baltimore)*, 1996;75(4):195-211.

31. Gür A, Geyik MF, Dikici B, Nas K, Cevik R, Sarac J, et al. Complications of brucellosis in different age groups: a study of 283 cases in southeastern Anatolia of Turkey. *Yonsei Med J*, 2003;44(1):33-44.
32. Coppola G, Carità P, Corrado E, Borrelli A, Rotolo A, Guglielmo M, et al. ST segment elevations: always a marker of acute myocardial infarction? *Indian Heart J*, 2013;65(4):412-23.
33. He Y, Wei C, Yun S, Wei J, Pu Z, Dai P. A case report of rare complication of brucellosis infection: myocarditis and pneumonitis. *J Int Med Res*, 2023;51(3):3000605231163818.
34. Imazio M, Cecchi E, Demichelis B, Ierna S, Demarie D, Ghisio A, et al. Indicators of poor prognosis of acute pericarditis. *Circulation* 2007;115:2739.
35. Permanyer-Miralda G. Acute pericardial disease: approach to the aetiologic diagnosis. *Heart*, 2004; 90:252.
36. Isiguzo G, Du Bruyn E, Howlett P, Ntsekhe M. Diagnosis and management of tuberculous pericarditis: What is new? *Curr Cardiol Rep*, 2020;22(1):2.
37. Pepi M, Muratori M. Echocardiography in the diagnosis and management of pericardial disease. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*, 2006;7(7):533-44.
38. Lewinter MM, Tischler MD. Pericardial diseases. In: Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, et al, Braunwald's Heart Disease—A Textbook of Cardiovascular Medicine, 9th ed. Philadelphia: Saunders; 2011:1651-71.
39. Mert A, Ozaras R, Tabak F, Bilir M, Yilmaz M, Kurt C, et al. The sensitivity and specificity of *Brucella* agglutination tests. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2003;46(4):241-3.
40. Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. *N Engl J Med*, 2005;352(22):2325-36.

## PCR-RFLP optimisation for *OPRM1* rs540825 and rs510769 gene polymorphisms and their allele/genotype frequencies in Turkish population

**OPRM1 rs540825 ve rs510769 gen polimorfizmleri için PCR-RFLP yöntemi optimizasyonu ve Türk popülasyonundaki alel/genotip frekansları**

Selin ÖZKAN KOTİLOĞLU<sup>1</sup> (ID)

### ABSTRACT

**Objective:** Opioid dependence, which has environmental and genetic components, is an important public health problem. *OPRM1* gene encodes mu opioid receptor (MOR) which is a primary target for opioids. Polymorphisms on the *OPRM1* gene have been shown to alter the properties and physiology of MOR and also may have impact on opioid dependence. The association between *OPRM1* rs540825 and rs510769 polymorphisms and substance dependence have been shown through various studies. The purpose of this study is to develop reliable, robust and easily applicable genotyping procedures for *OPRM1* rs540825 and rs510769 polymorphisms as they possess rising importance in the context of addiction and therapy success.

**Methods:** A novel and an improved method based on polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) was employed to determine *OPRM1* gene polymorphisms at positions rs510769 and rs540825, respectively. *OPRM1* gene regions containing these two polymorphisms were amplified using PCR; then, RFLP method was performed using the restriction

### ÖZET

**Amaç:** Opioid bağımlılığı, çevresel ve genetik bileşenleri olan önemli bir halk sağlığı problemidir. Opioidlerin başlıca hedefi olan mu opioid reseptörü (MOR) *OPRM1* geni tarafından kodlanmaktadır. *OPRM1* geninde bulunan polimorfizmlerin MOR'un fizyolojisini ve özelliklerini değiştirdiği gösterilmiştir ve bunun opioid bağımlılığında bir etkisi olabileceği düşünülmektedir. *OPRM1* polimorfizmlerinden rs540825 ve rs510769'un madde bağımlılığı ile ilişkisi yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı bağımlılıkta ve bağımlılık tedavisinde önemi gittikçe artan *OPRM1* rs540825 ve rs510769 polimorfizmleri için güvenilir, güçlü ve her laboratuvarında uygulanabilecek bir genotiplendirme yöntemi geliştirmektir.

**Yöntem:** *OPRM1* gen polimorfizmlerinden rs510769 için yeni ve rs540825 içinse iyileştirilmiş polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parçacık uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) tekniğine dayanan yöntemler geliştirilmiştir. *OPRM1* geninde bu iki polimorfizmin bulunduğu bölgeler PCR ile çoğaltılmış ve sonrasında da rs540825 için *NlaIII* enzimi ve rs510769 için *SspI* enzimi kullanılarak

<sup>1</sup>Kırşehir Ahi Evran University, Faculty of Science and Art, Department of Molecular Biology and Genetics, Kırşehir



İletişim / Corresponding Author : Selin ÖZKAN KOTİLOĞLU  
Kırşehir AEÜ. Fen Ed.Fak. Mol. Biyo. ve Gen. Böl. Bağbaşı Kampüsü Kırşehir - Türkiye  
E-posta / E-mail : selin.ozkan@ahievran.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 13.02.2023  
Kabul Tarihi / Accepted : 05.09.2023

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.43433

Özkan Kotiloğlu S. PCR-RFLP optimisation for *OPRM1* rs540825 and rs510769 gene polymorphisms and their allele/genotype frequencies in Turkish population. Turk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(3): 355 - 364

enzymes *NlaIII* and *SspI* for rs540825 and rs510769, respectively. A total of 70 healthy samples from the Turkish population were tested to evaluate these two developed PCR-RFLP methods.

**Results:** Amplicons were 276 base pair (bp) and 563 bp in length for rs540825 and rs510769, respectively. The length of the restriction products of *OPRM1* rs540825 were 276 bp for wild type AA genotype, 153 bp and 123 bp for polymorphic TT genotype. Digestion of PCR region including rs510769 polymorphism yielded 364 bp, 146 bp and 53 bp fragments for polymorphic TT genotype and 417 bp and 146 bp fragments for wild-type CC genotype. Allelic and genotypic frequencies of rs540825 in the Turkish population were calculated as 29 % for allele A and 71 % for allele T, 10 % for AA, 38.6 % for AT, and 51.4 % for TT. For rs510769 polymorphism, 60 % of the individuals had CC genotype, 24.3 % and 11.4 % of them had CT and TT, respectively. Allele frequencies of rs510769 polymorphism were 75 % for allele C and 25 % for allele T.

**Conclusion:** Novel, reliable and easy-to-apply PCR-RFLP technologies were developed to detect rs540825 and rs510769 polymorphism in the *OPRM1* gene. Moreover, genotype and allele frequencies of them were determined in the Turkish population.

**Key Words:** *OPRM1* gene, single nucleotide polymorphism, PCR-RFLP, optimisation, genotyping

RFLP yöntemi uygulanmıştır. Sağlıklı bireylerden oluşan 70 kişilik bir Türk popülasyonu örneklemini üzerinde geliştirilen yöntemler test edilmiştir.

**Bulgular:** *OPRM1* rs540825 ve rs510769 polimorfizmleri için PCR ürünleri sırasıyla 276 baz çifti (bç) ve 563 bç uzunluğundadır. *OPRM1* rs540825 için kesim ürünleri yabanıl AA genotipi için 276 bç iken polimorfik TT genotipi için 153 bç ve 123 bç boyutundadır. *OPRM1* rs510769 polimorfizmini içeren PCR ürününün kesimi sonucunda polimorfik TT genotipi için 364 bç, 146 bç ve 53 bç'lik ürünler elde edilirken, yabanıl CC genotipi için 417 bç ve 146 bç boyutunda kesim ürünleri elde edilmiştir. *OPRM1* rs540825 polimorfizminin alel ve genotip frekansları A aleli için % 29 ve T aleli için % 71 olarak, AA genotipi için % 10, AT genotipi için % 38,6 ve TT genotipi için de % 51,4 olarak hesaplanmıştır. *OPRM1* rs510769 polimorfizmi için, bireylerin %60'ının CC genotipine, sırasıyla % 24,3 ve % 11,4'ünün CT ve TT genotiplerine sahip olduğu gösterilmiştir. *OPRM1* rs510769 polimorfizminin alel frekansları C aleli için % 75 ve T aleli için % 25 olarak belirlenmiştir.

**Sonuç:** Yeni, güvenilir ve uygulaması kolay PCR-RFLP yöntemleri *OPRM1* geninde bulunan rs540825 ve rs510769 polimorfizmlerinin genotiplendirilmesi için geliştirilmiştir. Ayrıca bu polimorfizmlerin alel ve genotip frekansları Türk popülasyonunda belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *OPRM1* geni, tek nükleotit polimorfizmi, PCR-RFLP, optimizasyon, genotiplendirme

## INTRODUCTION

Addiction is described as a multifactorial disease and the mechanism underneath the susceptibility differences between individuals still remains unclear. Addiction arises with the effects of cultural, environmental, developmental, neurobiological and

also genetic factors (1). As an important public health problem, opioid abuse also has both environmental and genetic components (2,3).

Opioids are one of the most effective analgesics in medical use, however, they may easily lead to addiction due to their powerful rewarding features (4). When opioids enter the body and reach the nervous

system, they exert their function via binding opioid receptors (5). Opioid receptors are the members of G-protein superfamily which is a cell-surface receptor class where many drugs show their action by binding them (6). Opioid receptors are present in the brain, spinal cord, gastrointestinal system and skin. These receptors have critical roles in substance addiction, mood swings and pain management and following the stimulation of them euphoria, sedation, analgesia and respiratory depression occurs (7). Mu, kappa and delta opioid receptors are the three major subtypes having diverse impacts where analgesia is the common one for three of them. Mu opioid receptors (MORs) are critical for the reward system and stimulation of them leads to euphoria, physical dependence and hypoventilation (respiratory depression). MORs regulate the response to pain treatment, stress and rewarding impacts of numerous drugs via mesolimbic dopamine system (1). As MORs are the main receptor activated by opioids, studies on opioid use disorder have focused on them as they play a critical role in substance dependence and tolerance (8). MORs are crucial mediators of rewarding features of various drugs used for addiction therapy and therefore stand as important targets of them (9).

The mu-opioid receptor is encoded by *OPRM1* gene which possess various isoforms and splice variants including pharmacologically important ones. *OPRM1* gene is a complex gene with 12 exons and two independent promoters. MOR-1 is a member of the G-protein coupled receptor family and composed of seven transmembrane domains (10). Various variations on the *OPRM1* gene have been reported to change the properties and physiology of MOR and be clinically relevant. Moreover, significant variations have been reported in the *OPRM1* gene amongst different human populations (11).

*OPRM1* rs540825 polymorphism is a missense variant located in the final exon and consists of a histidine to glutamine substitution in the C-terminal of the receptor (12). The association of this polymorphism with depression, pain and substance

dependence have been examined by many studies (8; 12-17).

*OPRM1* rs510769 is located at the first intron of the *OPRM1* gene and involves a cytosine to thymine substitution (8,18). It is one of the most studied polymorphisms of this gene as its potential to influence alternative splicing and by means of this alters the gene function. It was also found to be associated with alcohol and substance dependence including heroin, amphetamine (18-21).

PCR-RFLP is a valuable tool for molecular biology due to being easy and cheap to be applied in a basic laboratory (22). Therefore, it is important to develop this method as a reliable and rapid option for the detection of gene variants.

To our knowledge this study presents a novel PCR-RFLP method to genotype *OPRM1* rs510769 polymorphisms and an improved PCR option for *OPRM1* rs540825. In the literature a study by Smith and colleagues (13) reporting PCR-RFLP method for rs540825 polymorphism however with currently improved method serves better discrimination of the bands after restriction digestion. Moreover, a total of 70 healthy samples from the Turkish population were tested to evaluate these two developed PCR-RFLP methods and allele and genotype frequencies of these SNPs were determined for the first time.

## MATERIAL and METHOD

### Study sampling and genomic DNA isolation

Whole blood in EDTA was collected from healthy volunteers (n=70) who were admitted to Blood Donation Center of Ankara University. They were given informed consent by following the principles outlined in the Declaration of Helsinki. All participants were born in Turkey and their parents were native Turkish. Blood samples in EDTA tubes were kept at -20 °C until genomic DNA isolation was performed using QIAamp DNA blood kit (Qiagen, Germany) according to the manufacturer's recommendations.

### Polymerase chain reactions for *OPRM1* rs540825 and rs510769 polymorphisms

The sequence of *OPRM1* gene containing the regions of rs540825 and rs510769 polymorphisms was obtained from NCBI website (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Novel primers were designed using the NCBI primer design tool as below: rs540825 forward 5'-CTTAAATGCCTAGTCCTCAGCTA-3', rs540825 reverse 5'-GAAATGCTCCACCAGACGGG-3', rs510769 forward 5'-GCCTAGACCAGTTTGCCGTTA-3', rs510769 reverse 5'-AGAGCTCCGCTGAAACCTG-3'. PCR amplification was conducted on a Techne Tc 512 PCR System in a 25 µL reaction mixture which consists of 50 ng of genomic DNA, 4mM of each dNTPs, 10 pmol each of forward and reverse primers, 1.25 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.25 U of Taq DNA polymerase (Amplicon, Denmark) and 10x Ammonium Buffer (Ampliqon, Denmark). PCR conditions were as follows: initial denaturation at 94 °C for 5 min, followed by 35 cycles of denaturation at 94 °C for 1 min, annealing at 60 °C for 1 min, elongation at 72 °C for 1 min, and a final extension step at 72 °C for 10 min. The expected sizes of the

PCR products were 276 bp for rs540825 and 563 bp for rs510769 and these amplification products were confirmed by agarose gel electrophoresis.

### Restriction fragment length polymorphism (RFLP) methods to detect *OPRM1* rs540825 and rs510769 genotypes

Restriction fragment length polymorphism (RFLP) was used to genotype *OPRM1* rs540825 and rs510769 polymorphisms. Enzyme (*SspI*) digesting the PCR product for genotyping *OPRM1* rs510769 was determined using online tools such as RestrictionMapper version 3 and NEBcutter V2.0. following accession of the sequence region containing rs510769 SNP from dbSNP database. The enzyme used to detect the PCR product of *OPRM1* rs540825 was *NlaIII* which had been published by Smith and colleagues (13). Conditions and products of restriction reactions were given in Table 1. The digested products were electrophoresed on 3 % agarose gel stained with ethidium bromide (EtBr).

**Table 1.** Conditions and products of digestion reactions to determine *OPRM1* rs540825 and rs510769 genotypes

SNP	PCR product size (bp)	Restriction enzyme and digestion conditions	Digestion products (bp)	Ingredients of digestion reaction
<i>OPRM1</i> rs540825	276	<i>NlaIII</i> 37 °C 1 hour	AA: 276 AT: 276 + 153 + 123 TT: 153 + 123	5.0 µl PCR product 1.0 µl G buffer (10X) 1.0 µl <i>NlaIII</i> enzyme 3.0 µl sdH <sub>2</sub> O
<i>OPRM1</i> rs510769	573	<i>SspI</i> 37 °C 1 hour	CC: 417 + 146 CT: 417 + 364 + 146 + 53 TT: 364 + 146 + 53	5.0 µl PCR product 1.0 µl G buffer (10X) 0.5 µl <i>SspI</i> enzyme 3.5 µl sdH <sub>2</sub> O

### Statistical analysis

Direct counting was used to calculate allele and genotype frequencies of both SNPs and the departure from the Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) was evaluated by chi-square test. Statistical analyses were performed using The Statistical Package for Social

Sciences (SPSS) version 21.0 software for Windows. All categorical data were shown as numbers.  $p < 0.05$  was considered as statistically significant.

The study was approved by the Ankara Universtiy Clinical Research Ethics Committee (Date: 08.04.2019 and Number: 07-536-19).



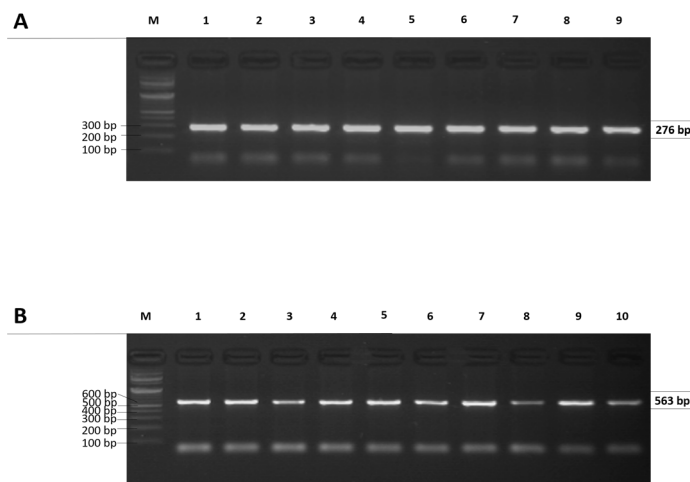
### RESULTS

PCR-RFLP assays for genotyping *OPRM1* rs540825 and rs510769 polymorphisms were developed and summarised in Figure 1. New primers were designed and 276 bp and 563 bp regions of *OPRM1* gene to detect rs540825 and rs510769 polymorphisms were amplified successfully (Figure 2). *OPRM1* rs540825

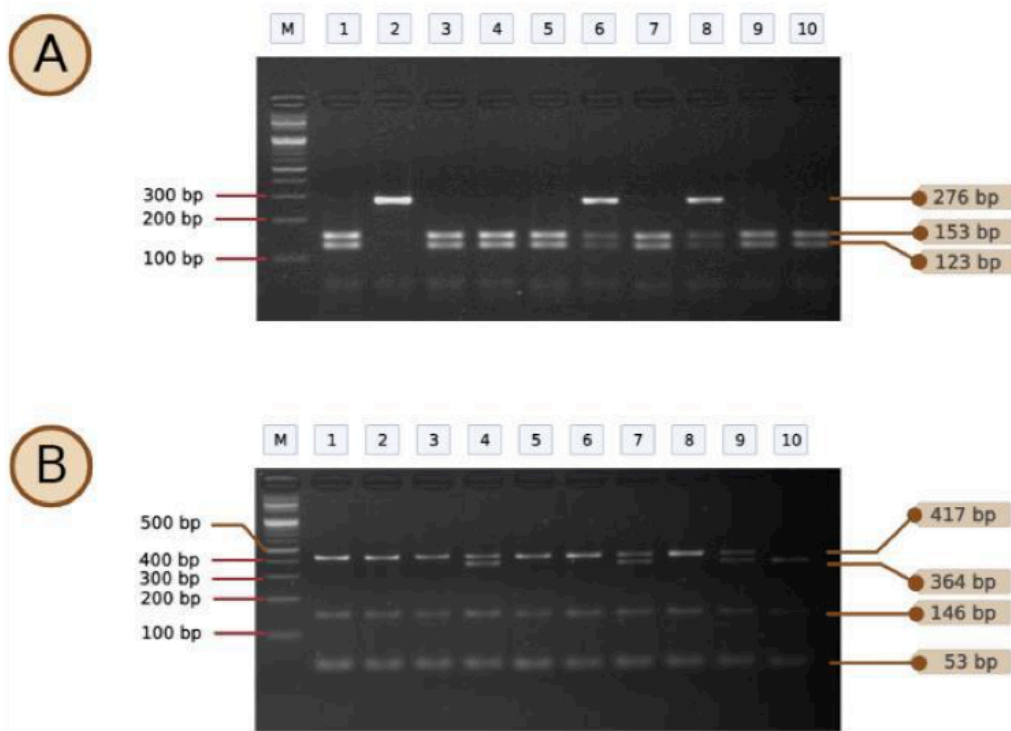
polymorphism was determined by digesting with *NlaIII* enzyme as described by Smith and colleagues (13). *SspI* restriction enzyme was used to detect *OPRM1* rs510769 polymorphism. This enzyme has two recognition sites in the presence of polymorphic allele. Restriction products of wild type, heterozygous and variant genotypes were given in Figure 3.



**Figure 1.** The design of PCR and RFLP for the detection of *OPRM1* rs540825 (A) and rs510769 (B) polymorphisms. Forward and reverse primers were highlighted in green and pink, respectively on the sequence. Polymorphic nucleotide was highlighted in red and recognition regions of restriction enzymes were indicated as underlined text



**Figure 2.** PCR amplicons containing *OPRM1* rs540825 (A) and rs510769 (B) polymorphisms run on agarose gel electrophoresis. Lane M represents a 100 bp marker



**Figure 3.** Restriction products of *OPRM1* rs540825 (A) and rs510769 (B) polymorphisms run on agarose gel electrophoresis. In the image (A), Lane M represents 100 bp ladder; Lanes 1, 3, 4, 5, 7, 9 and 10 represent homozygous polymorphic genotype (TT) of *OPRM1* rs540825; Lanes 6 and 8 represent heterozygous genotype (AT) and Lane 2 represents homozygous wild-type genotype (AA). In the image (B), Lane M represents a 100 bp ladder; Lanes 1, 2, 3, 5, 6 and 8 represent homozygous wild-type genotype (CC) of *OPRM1* rs510769; Lanes 4, 7 and 9 represent heterozygous genotype (CT) and Lane 10 represents homozygous polymorphic genotype (TT)

In the whole sample, while the genotype frequencies of the *OPRM1* rs540825 ( $\chi^2 = 0.33$ ;  $p = 0.56$ ) were within the expected HWE, those of rs510769 ( $\chi^2 = 5.34$ ;  $p = 0.02$ ) were in Hardy-Weinberg disequilibrium. Allelic and genotypic frequencies of rs540825 in the Turkish population were calculated as 29% for allele A and 71% for allele T, 10 % for AA, 38.6% for AT, and 51.4% for TT as summarised in Table 2. For rs510769 polymorphism, 60 % of the individuals had CC genotype, 24.3% and 11.4% of them had CT and TT, respectively. Allele frequencies of rs510769 polymorphism were 75% for allele C and 25% for allele T (Table 2).

## DISCUSSION

Opioid system, serves a central role in analgesia and nociception, regulates mood, well-being and also addictive behaviours. This system consists of kappa, delta and mu opioid receptors and among them, mu opioid receptor has a key role in dopamine release and reward and is encoded by *OPRM1* gene (23). Polymorphisms in *OPRM1* gene have shown to affect the function and expression of mu opioid receptor resulting in alterations in the reward pathway and therefore may contribute to addiction and have pharmacological importance (2,3,10,24).

**Table 2.** Genotype and allele frequencies of *OPRM1* rs540825 and rs510769 polymorphisms

SNP	Genotype	Expected	Observed	Allele	Chi-square (X <sup>2</sup> )	P-value
<i>OPRK1</i> rs540825 A>T	AA	6.0	7	A: 0.29 T: 0.71	0.33	0.56
	AT	29.0	27			
	TT	35.0	36			
<i>OPRK1</i> rs510769 C>T	CC	39.4	43	T: 0.75 C: 0.25	5.34	0.02
	CT	26.3	19			
	TT	4.4	8			

*OPRM1* variations rs540825 and rs510769 have been investigated in studies related to depression, pain and addictive diseases (3,16,17,18,28). Those results were contradictory amongst populations with different ethnic backgrounds. Therefore, it is important to evaluate their frequencies in various populations to reveal their roles in diseases. PCR-RFLP technique is a cheap and reliable fundamental method serving a useful option to screen large populations as cost is a limiting factor (22).

In the literature, genotyping of *OPRM1* rs540825 polymorphism was done by means of DNA sequencing, Taqman assay, Sequenom MassARRAYsystem and also PCR-RFLP (8,13,16,17). PCR-RFLP method has already been developed for *OPRM1* rs540825 however here we developed an improved version by designing new primers to amplify smaller portions of the gene including one restriction site of the enzyme in order to discriminate RFLP products easily and so genotypes better. Among previous studies only one employed PCR-RFLP technique for genotyping and allele frequencies were found as 0.25 for allele A and 0.75 for allele T in a European American population. In that study, the primers used to amplify *OPRM1* gene produces an amplicon in 362 bp size and this

amplicon had two restriction sites of *NlaIII* enzyme. So the sizes of the restriction products were close to each other such as 139 bp and 128 bp which made them uneasy to distinguish on an agarose gel (13). In order to overcome this hurdle, we designed new primers to amplify the gene portion containing only one restriction site of the *NlaIII* enzyme. So with this improved PCR-RFLP method an easier genotyping by using agarose gel electrophoresis can be done and used in any laboratory. In a study searching the role of genetic variants on naltrexone treatment response, minor allele frequency of *OPRM1* rs540825 polymorphism was 0.24 in Caucasians (15). Shabalina and colleagues determined the frequency of allele T as 0.24 in European Americans (29). In a recent study investigating the impacts of *OPRM1* SNPs in pain used Taqman genotyping assay and determined the allele frequencies in African population as 0.22 and 0.78 for A and T alleles, respectively (17). In our study, the frequency of allele A was found as 0.29 and allele T was found as 0.71. These values were in accordance with the previous studies held on populations with discrete backgrounds.

An intronic common polymorphism rs510769 was found to be associated with opioid dependence

in Europeans (20). Moreover, it was reported to be involved in cannabis use (9). *OPRM1* rs510769 polymorphism has been detected by means of various methods including Matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry (MALDI-MS), TaqMan genotyping, gene chip and array technologies however no study has utilised PCR-RFLP method (19,21,25,26,27). So, a method which may be preferred in the laboratories with low-budget has been developed for the first time. In a study assessing the influence of *OPRM1* polymorphisms on alcohol and tobacco use in Spanish population, the genotype frequencies of *OPRM1* rs510769 have been reported as 60.9% for CC, 33.8% for CT and 5.3% for TT in control subjects (27). Kojevod and colleagues reported the allele frequencies of rs510769 as 72% for C and 28% for T allele in Caucasians (18). Our results reflecting the Turkish population are in accordance with the previous studies and global allele frequencies (obtained

from dbSNP database) for rs510769 polymorphism.

The methods presented here provide clear detection of *OPRM1* rs540825 and rs510769 polymorphisms and contribute to the literature by serving cheap and easy to apply options. It is crucial to reveal differences between populations as *OPRM1* variations have potential to affect various responses in pain, stress and reward systems and might be useful for applications in hospitals as tailored therapies may only be accomplished by genotyping prior to treatment. Furthermore, if the allele frequency of a SNP is similar amongst populations and this polymorphism affects the metabolism of the drug, then this impact might be added to prospectus of the medicine. In summary, an improved rapid PCR for rs540825 and a novel PCR-RFLP method for rs510769 were developed for genotyping which can be routinely preferred in research laboratories.

## ACKNOWLEDGEMENT

The author would like to thank Assoc. Prof. Dilek Kaya-Akyüzlü for her critical reading and comments. This study was supported by Kırşehir Ahi Evran University Scientific Research Projects Unit with the project number FEF.A4.21.002.

## ETHICS COMMITTEE APPROVAL

\* The study was approved by the Ankara Universtiy Clinical Research Ethics Committee (Date: 08.04.2019 and Number: 07-536-19).

## CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

## REFERENCES

1. Popescu A, Marian M, Dragoi AM, Costea RV. Understanding the genetics and neurobiological pathways behind addiction. *Exp Ther Med*, 2021;21:554.
2. Crist RC, Reiner BC, Berrettini WH. A review of opioid addiction genetics. *Cur Opin Psych*, 2019;27:31-5.
3. Levran O, Kreek MJ. Population-specific genetic background for the *OPRM1* variant rs1799971 (118A>G): implications for genomic medicine and functional analysis. *Mol Psych*, 2021; 26: 3169-77.
4. Fields HL, Margolis EB. Understanding opioid reward. *Trend Neurosci*, 2015;38:217-25.
5. Kreek MJ, Levran O, Reed B, Schlussman SD, Zhou Y, Butelman ER. Opiate addiction and cocaine addiction: underlying molecular neurobiology and genetics. *J Clin Invest*, 2012;122:3387-93.
6. Vortherms TA, Roth BL. Receptorome screening for CNS drug discovery. *IDrugs*, 2005; 8(6):491-6.
7. Shang Y, Filizola M. Opioid receptors: structural and mechanistic insights into pharmacology and signaling. *Eur J Pharm*, 2015;763:206-13.
8. Al-Eitan LN, Jaradat SA, Su YSY, Tay GK, Hulse GK. Mu opioid receptor (*OPRM1*) as a predictor of treatment outcome in opiate-dependent individuals of Arab descent. *Pharm Person Med*, 2012;5:99-111.
9. Bourgault Z, Matheson J, Mann RE, Brands B, Wickens CM, Tiwari AK, et al. Mu opioid receptor gene variant modulates subjective response to smoked cannabis. *Am J Transl Res*, 2022;14(1):623-32.
10. Pasternak GW, Pan Y-X. Mu opioids and their receptors: evolution of a concept. *Pharm Rev*, 2013;65:1257-317.
11. Lopez Soto EJ, Catanesi CI. Human population genetic structure detected by pain-related mu opioid receptor gene polymorphisms. *Genet Mol Biol*, 2015;38:152-5.
12. Garriock HA, Tanowitz M, Kraft JB, Dang VC, Peters EJ, Jenkins GD, et al. Association of Mu-opioid receptor variants and response to citalopram treatment in major depressive disorder. *Am J Psychiatry*, 2010;167(5):565-73.
13. Smith RJ, Doyle GA, Han AM, Crowley JJ, Oslin DW, Patkar AA, et al. Novel exonic m-opioid receptor gene (*OPRM1*) polymorphisms not associated with opioid dependence. *Am J Med Gen*, 2005;133B:105-9.
14. Luo X, Zuo L, Kranzler H, Zhang H, Wang S, Gelernter J. Multiple OPR genes influence personality traits in substance dependent and healthy subjects in two American populations. *Am J Med Gen*, 2008;147B:1028-39.
15. Oroszi G, Anton RF, O'Malley S, Swift R, Pettinati H, Couper D, et al. *OPRM1* Asn40Asp predicts response to naltrexone treatment: A haplotype-based approach. *Alcohol Clin Exp Res*, 2009;33(3):383-93.
16. Pang GSY, Ithnin F, Wong YY, Wang JB, Lim Y, Tiong A, et al. A non-synonymous single nucleotide polymorphism in an *OPRM1* splice variant is associated with fentanyl-induced emesis in women undergoing minor gynaecological surgery. *PLoS ONE*, 2012;7(11):e48416.
17. Firfirey F, September AV, Shamley D. *ABCB1* and *OPRM1* single-nucleotide polymorphisms collectively modulate chronic shoulder pain and dysfunction in South African breast cancer survivors. *Pharmac*, 2022;23(9):513-30.
18. Konjevod M, Perkovic MN, Strac DS, Uzun S, Erjavec GN, Kozumplik O, et al. Significant association of mu-opioid receptor 1 haplotype with tobacco smoking in healthy control subjects but not in patients with schizophrenia and alcohol dependence. *Psych Res*, 2020;291:113278.

19. Zhang L, Kendler KS, Chen X. The  $\mu$ -opioid receptor gene and smoking initiation and nicotine dependence. *Behav Brain Func*, 2006;2:28.
20. Levrano O, Londono D, O'Hara K, Nielsen DA, Petes E, Rotrosen J, et al. Genetic susceptibility to heroin addiction: a candidate gene association study. *Genes Brain Behav*, 2008;7:720-9.
21. Dlugos AM, Hamidovic A, Hodgkinson C, Pei-Hong S, Goldman D, Palmer AA, et al. *OPRM1* gene variants modulate amphetamine-induced euphoria in humans. *Genes Brain Behav*, 2011;10(2):199-209.
22. Feng X, Wang S, Duan X, Li C, Yan Z, Feng F, et al. An improved PCR-RFLP assay for the detection of a polymorphism rs2289487 of *PLIN1* gene. *J Clin Lab Anal*, 2016;30:986-9.
23. Merrer JL, Becker JAA, Befort K, Kieffer BL. Reward processing by the opioid system in the brain. *Physiol Rev*, 2009;89:1379-412.
24. Yuferov V, Levrano O, Proudnikov D, Nielsen DA, Kreek MJ. Search for genetic markers and functional variants involved in the development of opiate and cocaine addiction and treatment. *Ann N Y Acad Sci*, 2010;1187:184-207.
25. Sauer S, Lehrach H, Reinhardt R. MALDI mass spectrometry analysis of single nucleotide polymorphisms by photocleavage and charge-tagging. *Nuc Acid Res*, 2003;31:e63.
26. Sherva R, Wilhelmsen K, Pomerleau CS, Chasse SA, Rice JP, Snedecor SM, et al. Association of a single nucleotide polymorphism in neuronal acetylcholine receptor subunit alpha 5 (*CHRNA5*) with smoking status and with "pleasurable buzz" during early experimentation with smoking. *Addiction*, 2008;103(9):1544-52.
27. Frances F, Portoles O, Castello A, Costa JA, Verdu F. Association between opioid receptor mu 1 (*OPRM1*) gene polymorphisms and tobacco and alcohol consumption in a Spanish population. *Bosn J Basic Med Sci*, 2015;15(2):31-6.
28. Hoehe MR, Köpke K, Wendel B, Rohde K, Flachmeier C, Kidd KK, et al. *Human Mol Gen*, 2000;9(19):2895-908.
29. Shabalina SA, Zaykin DV, Gris P, Ogurtsov AY, Gauthier J, Diatchenko L, et al. Expansion of the human m-opioid receptor gene architecture: novel functional variants. *Human Mol Gen*, 2009;18(6):1037-51.

# The evaluation of telomere length and telomerase activity measurement in Neurofibromatosis type 1 NF1 tumors

## Nörofibromatozis tip 1 (NF1) tümörlerinde telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesinin ölçülmesi ve değerlendirilmesi

Parisa SHARAFI<sup>1</sup> (ID), Zeynep KILIÇ<sup>2</sup> (ID), Banu ANLAR<sup>3</sup> (ID), Ali VARAN<sup>4</sup> (ID), Sibel ERSOY EVANS<sup>5</sup> (ID), İbrahim VARGEL<sup>6</sup> (ID), Özlem YILDIRIM<sup>2</sup> (ID), Şükriye AYTER<sup>1</sup> (ID)

### ABSTRACT

**Objective:** Neurofibromatosis type 1 (NF1) is an autosomal dominant disease that affects 1 in 2,500 people worldwide. The disease is developed due to the occurrence of mutations in NF1 gene. NF1 gene is coding cytoplasmic protein which is negative regulator of RAS proteins. The loss of neurofibromin results in activation of RAS cascade and cell proliferation. For this reason, NF1 gene is categorized as tumor suppressor gene. It is clinically characterized by cafe-au-lait spots, Lisch nodules, axillary and inguinal freckling, multiple peripheral nerve tumors, bone lesions, and a predisposition to malignancy. Variations in NF1 mutations may not correlate with the variations in clinical phenotype. This unclear genotype-phenotype correlations is assumed to be due to modifier genes. One of these modifier candidates is telomere length and telomerase activity. Telomeres are repetitive nucleotide sequences located at the ends of chromosomes and protect them from fraying and sticking to each other. The length of telomeres is shortening in each cell division. Nevertheless, this shortening can be prohibited

### ÖZET

**Amaç:** Nörofibromatozis tip 1 (NF1), dünyada her 2.500 kişiden birini etkileyen otozomal dominant bir hastalıktır. Hastalık, NF1 genindeki mutasyonlar nedeniyle gelişir. NF1 geni, RAS proteinlerinin negatif regülatörü olan sitoplazmik bir proteini kodlamaktadır. Nörofibromin kaybı, RAS kaskadının aktivasyonuna ve hücre çoğalmasına neden olur. Bu nedenle NF1 geni, tümör baskılayıcı gen olarak kategorize edilir. Klinik olarak cafe-au-lait lekeleri, Lisch nodülleri, koltuk altı ve kasık çilleri, çoklu periferik sinir tümörleri, kemik lezyonları ve maliniteye yatkınlık ile karakterizedir. NF1 mutasyonlarındaki varyasyonlar, klinik fenotipteki varyasyonlarla ilişkili olmayabilir. Bu genotip-fenotip korelasyon yokluğunun modifiye edici genlerden kaynaklandığı varsayılmaktadır. Modifiye edici gen adaylarından biri de telomer uzunluğu ve telomeraz enzim aktivitesidir. Telomerler, kromozomların uçlarında yer alan ve onları yıpranmaya ve birbirine yapışmaya karşı koruyan tekrarlayan nükleotid dizileridir. Her hücre bölünmesinde telomerlerin uzunluğu kısılır ve bu kısılma, telomerlerin 3' ucuna

<sup>1</sup>TOBB University of Economics and Technology, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Ankara

<sup>2</sup>Ankara University, Faculty of Science, Molecular Biology Department, Ankara

<sup>3</sup>Hacettepe University, School of Medicine, Department of Pediatrics, Pediatric Neurology, Ankara

<sup>4</sup>Hacettepe University, School of Medicine, Department of Pediatrics, Pediatric Oncology, Ankara

<sup>5</sup>Hacettepe University, School of Medicine, Department of Dermatology, Ankara

<sup>6</sup>Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Plastic Surgery, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Parisa SHARAFI

Söğütözü caddesi no: 43, Z-02, Söğütözü Ankara - Türkiye

E-posta / E-mail : psharafi@etu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 05.02.2023

Kabul Tarihi / Accepted : 13.04.2023

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.59002

Sharafi P, Kılıç Z, Anlar B, Varan A, Ersoy Evans S, Vargel İ, Yıldırım Ö, Ayter Ş. The evaluation of telomere length and telomerase activity measurement in NF1 tumors. Turk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(3): 365 - 372



by the enzyme telomerase which adds a species-dependent telomere repeat sequence to the 3' end of telomeres. However, telomerase activity usually diminished after birth in somatic cells. Researches done in last years have shown the importance of telomere and telomerase activity and they are causally connected to human disease. However, the number of research on this concept for NF1 patients is very few.

**Methods:** The DNA and proteins isolated from tumors of nine NF1 patients was analyzed by quantitative PCR based technics. Telomere length measurement were done using the DNA samples. The pathological status of tumor tissues was confirmed by routine pathological examination. Telomerase activity were evaluated from proteins isolated from acquired tumor samples.

**Results:** Considering the preliminary results, higher telomerase activity is measured in some NF1 tumors and also variations in telomere size were detected.

**Conclusion:** These primary data indicate that telomere length may play an important role in NF1-associated tumor's progression and could provide information about the telomere-targeted therapeutic approaches for treatment of telomere dysfunction in the clinic.

**Key Words:** Neurofibromatosis type 1, modifier genes, telomere length, telomerase activity

telomer tekrar dizisi ekleyen telomeraz enzimi tarafından engellenebilir. Bununla birlikte, somatik hücrelerde telomeraz aktivitesi genellikle doğumdan sonra azalır. Son yıllarda yapılan araştırmalar, telomer ve telomeraz aktivitesinin önemini ve hastalıklarla ilişkili olduğunu göstermiştir. Ancak NF1 hastaları için bu kavramla ilgili araştırmalar son yıllarda başlamış olup sayısı çok azdır.

**Yöntem:** Dokuz NF1 hastasının tümör dokularından elde edilen DNA ve protein örnekleri kantitatif PCR tabanlı tekniklerle analiz edildi. Tümör dokularının patolojik durumu, rutin patolojik inceleme ile doğrulandı. DNA örnekleri kullanılarak telomer uzunlukları ölçüldü. Telomeraz aktivitesi, elde edilen tümör örneklerinden izole edilen proteinlerden değerlendirildi.

**Bulgular:** İlk sonuçlara bakıldığında, bazı NF1 tümörlerinde daha yüksek telomeraz aktivitesi ölçülmüş ve ayrıca telomer boyunda da varyasyonlar tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Bu öncül veriler, telomer uzunluğunun NF1 ile ilişkili tümörlerin ilerleme sürecinde önemli rol oynayabileceğini göstermiştir. Bu durum klinikte telomer işlev bozukluğunun tedavisi için telomer hedefli terapötik yaklaşımlar için de önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** Nörofibromatozis tip 1, modifiye edici genler, telomer uzunluğu, telomeraz aktivitesi

## INTRODUCTION

Neurofibromatosis type 1 (NF1), also known as von Recklinghausen's disease, is manifested by an autosomal dominant clusters, numerous café au lait spots on the skin, freckles, and large-small, tumors called neurofibromas. Sometimes, tumors can develop in bone, such as scoliosis, in the brain, cranial nerves and spinal cord (1).

The disease occurs due to the mutations in the NF1 gene in the 17q11.2 region of chromosome 17. The NF1 gene is one of the largest genes in the human genome

with a length of 350 kilobases and encodes mRNA containing 60 exons of 11-13 kb. Some of its exons (such as 9a, 23a, 48a) are formed by alternative splicing. The NF1 gene has been very conserved throughout evolution. There is 98% similarity between human and mouse and 68% between human and *Drosophila*, indicating that it encodes an important protein for living organism. Intron 27b contains three functional genes, named EVI2A, EVI2B and OMGP, which are transcribed in the opposite direction of the NF1 gene. Intron 39 also contains a pseudogene called AK3 (2).

Although the expression of the NF1 gene is common

in the body, its expression level is especially high in the nervous system. NF1 encodes the cytoplasmic protein neurofibromin. Neurofibromin is a protein with a molecular weight of 327 kD, consisting of 2818 amino acids. Neurofibromin isoforms are formed by alternative splicing in the NF1 gene. It is thought that these isoforms may play a role in the diversity of the clinical picture of NF1 (3).

The region of neurofibromin spanning exons 21-27a shows homology with the catalytic domain of guanosine triphosphatase activating proteins (GAP). The region of exon 21-27a is called the GAP-related region (GRD) (4,5).

NF1 disease clinically affects various organs and systems of the body, primarily the peripheral nervous system. Its main characteristic findings are neurofibroma formation, café au lait spots, axillary and inguinal freckles, lisch nodules, bone deformities, learning disabilities and a predisposition to tumor development. Neurofibromas, which cause clinical and aesthetic distress in patients, are benign tumors of the peripheral nerve sheath. These tumors are classified as cutaneous, subcutaneous and plexiform. Unlike the skin and subcutaneous neurofibromas, plexiform neurofibromas often enlarge and have the potential to become malignant. About 15% of NF1 patients develop malignant tumors. While the majority of these tumors involve the nervous system, some develop leukemia. There is no relationship between the mutations detected in NF1 patients and the phenotype of the disease. The clinic varies a lot; Even within the same family, individuals with the same mutation show a different clinical picture. An individual in our study group had a mild phenotype despite two different pathological mutations (5). Modifier genes are thought to be responsible for this clinical variability. The modifying effect of various candidate genes for clinical variations is being studied (6). Although it has been emphasized in recent years that telomere length may also be effective among these changes, these studies are few in number and need to be supported by new studies.

Telomeres are repetitive nucleotide sequences

at the ends of linear chromosomes and play a critical role in the termination of chromosome replication. The structure of telomeres was first described by Hermann Müller (7) and Barbara McClintock (8) in studies with *Drosophila* and *Zea mays*. Muller emphasized that these structures in telomeres of chromosomes exist to maintain integrity, he used the term telomere for the first time, and then McClintock emphasized that these structures are important for chromosome stability. Elizabeth Blackburn, Carol Greider, and Jack Szostak received the Nobel Prize in 2006 for their work on the protection of chromosomes by telomeres and telomerases (9,10). Thanks to the intensive studies that took place after that, a lot of information has been gained about telomeres. Telomeres are non-coding "TTAGGG" repeats located at the ends of chromosomes (11). At the 3' ends, the G-rich single strand DNA folds over itself to form a loop structure, and this loop is called the "T-loop" (12,13). Due to the nature of DNA replication, telomeres shorten with each cell division and when it reaches a critical length, cells stop dividing (14).

In recent years, it has been emphasized that telomere length can be a powerful new cellular marker for the prognosis of various tumors, including leukemia and breast cancer. Jones et al. (15), showed that telomere length is important for MPNSTs (Malignant peripheral nerve sheath tumors) in NF1, but there is no information about how the situation is in plexiform and cutaneous neurofibroma. Moreover, this study is the only one showing the relationship between NF1 and telomeres and needs to be supported by further studies. The same group of researchers previously studied the status of telomerase enzyme in MPNST and raised the possibility that telomerase enzyme could be used as a biomarker (16). For these reasons, in this study we planned to search the status of telomere length in NF1-related tumors. We aimed to determine the amount of telomere lengths and telomerase activity, which may be important for NF1 clinic, to reveal the differences and its use as a possible tumor type-specific cellular marker (17).

## MATERIAL and METHOD

### Patients

In this study, the plexiform and cutaneous tumor specimens were surgically taken from nine patients under appropriate conditions and fresh frozen and stored under appropriate conditions. The healthy skin sample tissue of one patient was used as the control. The pathological status of tumor tissues was confirmed by routine pathological examination.

### DNA Isolation

In this study, different tumor samples were taken surgically from NF1 patients; two dermal neurofibroma (dNF), four plexiform neurofibroma (pNF), two rhabdomyosarcoma samples (RMS) and one malignant peripheral nerve sheath tumor (MPNST). These samples were fresh frozen after surgery and kept in  $-80^{\circ}\text{C}$  for later use. These fresh frozen tissues were first crushed in a ceramic mortar with the aid of liquid nitrogen. Then the sample pieces were collected in a 2 ml tube and homogenized by the help of TissueRupture II Homogenizer (Qiagen) device. The DNA isolation from these samples were performed using GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher, Cat no: K0721).

### Telomere Length Measurement

Telomere length measurement were done by using the DNA samples. For the RT-PCR reaction of telomeres, primers of the  $\beta$ -Globin gene (single gene copy; SCG) was used as the “housekeeping” gene, as described by O’Callaghan and his group, together with standard primers (17).

The name and the sequence of the primers (10 pmoles/ $\mu\text{l}$ ) used for this purpose are given below:

*Telo 1* 5'-CGGTTTGGTTGGGTTGGGTTGGGTTGGGTTGGGTT-3'  
*Telo 2* 5'-GGCTTGCCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCT-3'  
*SCG 1* 5'-GCTTCTGACACAACCTGTGTTCACTAGC-3'  
*SCG 2* 5'-CACCAACTTCATCCACGTTACCC-3'

The RT-PCR reaction for telomeres were prepared as follows: 0.2  $\mu\text{l}$  *Telo 1* primer, 1,8  $\mu\text{l}$  *Telo 2* primer, 10  $\mu\text{l}$  Qiagen PCR mastermix, 2  $\mu\text{l}$  DNA sample and 6  $\mu\text{l}$  nuclease free water. The RT-PCR reaction for

*B-globin* gene as housekeeping gene, were prepared as follows: 0.6  $\mu\text{l}$  SCG 1 primer, 1,4  $\mu\text{l}$  SCG 2 primer, 10  $\mu\text{l}$  Qiagen PCR mastermix, 2  $\mu\text{l}$  DNA sample and 6  $\mu\text{l}$  nuclease free water. The reaction condition for both genes were as follows:  $95^{\circ}\text{C}$  for 10 minutes for denaturation,  $95^{\circ}\text{C}$  for 10 seconds,  $60^{\circ}\text{C}$  for 5 seconds and  $72^{\circ}\text{C}$  for 11 seconds. This was repeated for 45 cycles. The reaction was performed in Rotor Gene-Q Thermocycler (Qiagen, Maryland, USA). The comparison of gene expression results was analyzed by calculating  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  values.

### Quantitative Telomerase Screening

In this study, protein isolation was performed from frozen tumor tissues. The samples were prepared as explained before using liquid nitrogen and homogenizer device (TissueRuptur II, Qiagen). Then, each sample was suspended in 200  $\mu\text{l}$  of 1X lysis buffer and incubated on ice for 30 min. It was then centrifuged at 12,000  $\times g$  for 30 min at  $4^{\circ}\text{C}$ . The supernatant was transferred to a new tube. For protein concentration measurement, 160  $\mu\text{l}$  is poured into 1.5 ml tube. The isolated proteins were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  for later use. Before measuring telomerase activity, a small amount of each sample was taken in another 1.5 ml tube and inactivated by keeping at  $85^{\circ}\text{C}$  for 10 minutes and used as negative control group. As a positive control group the cell pellet included in the kit was used.

The samples for telomerase activity analysis was prepared according to datasheet of TRAPeze® Telomerase Detection Kit (Merck, Catalogue No: S7700) which is based on the TRAP assay (Telomeric Repeat Amplification Protocol). The reaction was performed in Rotor Gene-Q Thermocycler (Qiagen, Maryland, USA). Data analysis is performed by comparing the obtained cycle threshold values (Ct) with the standard curve and comparing the telomerase activity of the samples.

The study was approved by the Institutional Ethics Committee of TOBB University of Economy and Technology (Date: 29.02.2019 and Number: KA EK-118/032).

## RESULTS

### Telomere Length Measurement

For measuring telomere length, DNA isolation were performed from fresh frozen tumor samples of 9 different patients including 4 plexiform (pNF) samples, 2 dermal (dNF), 2 Rhabdomyosarcoma (RMS) and 1 MPNST tumor samples. The length of telomeres was measured by using *Telo* primers and compared to *B-globin (SCG)* gene primers as housekeeping gene. The result was compared to control group which is the healthy skin sample from one of the patients. The results of individual samples are given in Table 1. The average mean of samples was shown in Figure 1.

Considering our preliminary results, plexiform neurofibroma have the lowest telomere length and MPST sample have the highest telomere length compare to control sample. The length of dermal plexiform and rhabdomyosarcoma tumors has been very close to each other. Moreover, variations in telomere size were detected. Comparing to the healthy DNA sample, although the telomere length of dermal neurofibromas are shortened, plexiform neurofibromas show smaller telomere length. However, the telomere length of MPNST is higher than healthy DNA sample. The list of samples and the mean values of telomere lengths calibrated to healthy DNA sample has been given in Table 1.

Table 1. Telomere length calibrated to control (accepted as 1)

Type of Tumor	Patient Code	Telomere Length
Dermal Neurofibroma	dNF-1	0,69
	dNF-2	0,57
Plexiform Neurofibroma	pNF-1	0,05
	pNF-2	0,04
	pNF-3	0,0001
	pNF-4	6*10 <sup>-8</sup>
Rhabdomyosarcoma	RMS-1	0,49
	RMS-2	0,11
MPNST	MPNST-1	1,72

The Average Telomere Lengths

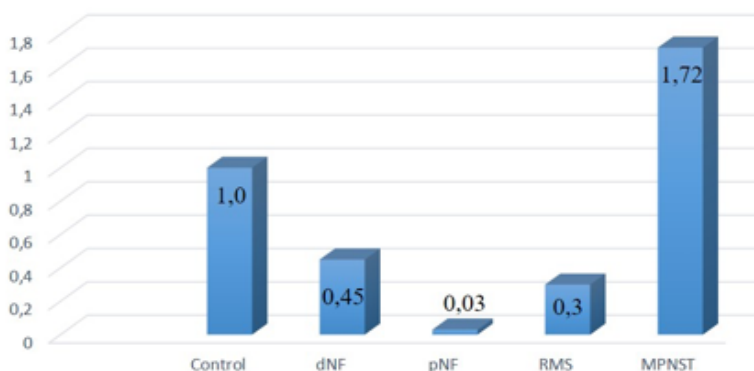
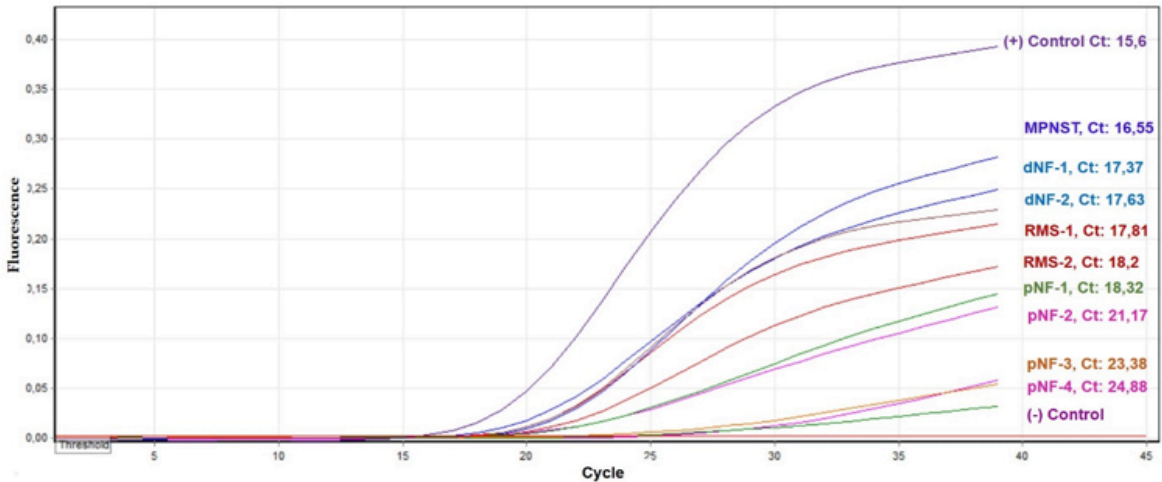


Figure 1. The overall results of average telomere lengths of dermal neurofibroma, plexiform neurofibroma, rhabdomyosarcoma and MPNST regarding control sample

### Tetomerase Activity Analysis

To measure tetomerase activity of the tumor samples, proteins were isolated according to

datasheet of TRAPeze® RT Tetomerase Detection Kit Assay. The result was shown in Figure 2.



**Figure 2.** Measurement of tetomerase activity from patients' tumor tissue [(+) Control: Cell with high tetomerase activity; dNF: dermal neurofibroma, pNF: Plexiform neurofibroma, RMS: Rhabdomyosarcoma, MPNST: Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor, (-) Control: Heat inactivated sample]

### DISCUSSION

NF1 is an autosomal dominant disease that affects 1 in 2,500 people worldwide. The disease is developed due to the occurrence of mutations in NF1 gene which codes for neurofibromin. The loss of neurofibromin results in activation of RAS cascade and cell proliferation. For this reason, NF1 gene is categorized as tumor suppressor gene. Variations in NF1 mutations may not correlate with the variations in clinical phenotype. This unclear genotype-phenotype correlations is assumed to be due to the modifier genes.

One of these candidate modifiers is tetomere length and tetomerase enzyme activity. Tetomeres are repetitive nucleotide sequences located at the ends of chromosomes and protect them from fraying and sticking to each other, so tetomere length has crucial role in maintaining of genomic integrity in normal cells. The length of tetomeres shortens in each cell division. Excessive shortening of tetomere length during cell division can be end up with loss of genes located near to

tetomere region and finally cause chromosomal instability.

Tetomere length can be used as cellular marker to study the mechanism of aging, stress, obesity, cancer and many other diseases (18). As an example, we can talk about ischemic heart disease (19), Alzheimer's Disease (20), osteocarcoma in females (21), lung cancer among smokers (22), familial thyroid cancer (23), diabetes (24) and dementia (25) that have shown the correlation with tetomere length. On the other hand, studies related to age-related macular degeneration (19), colorectal cancer (26), and death from infectious disease, cancer, cardiac or cerebrovascular disease (27) they have observed no significant relationship with tetomere length.

Tetomere length is maintained by tetomerase enzyme which adds a species-dependent tetomere repeat sequences to the 3' end of tetomeres. However, tetomerase activity usually diminished after birth in somatic cells (28). Thus, to explain the differences between tetomere length and tetomerase activity should be studied and analyzed together. There are

many methods and protocols to study telomere length and telomerase activity, such as STELA method (Single TELOmere Length Analysis), which is expensive and requires more technological lab facilities (29). However, qRT-PCR, although it does not give information on chromosome basis as in STELA method, is still a powerful tool to measure telomere length and telomerase activity in basic level and give us enough information (18).

Research in recent years has shown the importance of telomere and telomerase activity and their cause-and-effect association with human disease. However, the number of research on this concept for NF1 patients is very limited. According to literature, any changes in telomere length and telomerase activity can affect the disease progression. This preliminary study shows that both telomere length and telomerase activity of plexiform neurofibroma has the most decrease comparing to other tumor samples. As we know plexiform neurofibroma is the early stage of malignancy considered as premalignant and telomerase activity is low in premalignant tumors (30). Even though we had only one MPNST sample, we got the highest telomere length for MPNST (Table 1, Figure 1) in the contrary

to Jones et al (15). However, we should point out that Jones et al. have analysed results for 19 MPNST samples by STELA (16, 19). Moreover, we monitored telomerase activity for all samples however, we could only compare the results relative to positive and negative control (Figure 2). Comparing the Ct values for telomerase activity we can see the highest decrease for plexiform tumors and the lowest decrease for MPNST, comparing to positive control which is offered by the kit (whose have the highest telomerase activity). Telomerase activity of dermal neurofibromas and Rhabdomyosarcomas are almost the same. If we evaluate the results from both telomere length and telomerase activity, we can clearly observe that the results are compatible. Our results showed similarities with Mantripragada et al. (16) studies.

In conclusion, according to results; statistical analyzes were not found to be significant due to the small number of samples. However, the preliminary obtained data indicate that telomere length may play an important role in NF1-associated tumor progression and could provide information about the telomere-targeted therapeutic approaches in future.

### ETHICS COMMITTEE APPROVAL

\* The study was approved by the Institutional Ethics Committee of TOBB University of Economy and Technology (Date:29.02.2019 and Number: KAEK-118/032).

### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

### REFERENCES

1. Bizzarri C, Bottaro G. Endocrine implications of neurofibromatosis 1 in childhood. *Horm Res Paediatr*, 2015;83(4):232-41.
2. Shen MH, Harper PS, Upadhyaya M. Molecular genetics of neurofibromatosis type 1 (NF1). *J Med Genet*, 1996;33(1):2-17.
3. Abramowicz A, Gos M. Neurofibromin - protein structure and cellular functions in the context of neurofibromatosis type 1 pathogenesis. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 2015;69:1331-48.
4. Maertens O, Cichowski K. An expanding role for RAS GTPase activating proteins (RAS GAPs) in cancer. *Adv Biol Regul*, 2014;55:1-14.



5. Terzi YK, Sirin B, Hosgor G, Serdaroglu E, Anlar B, Aysun S, et al. Two pathogenic NF1 gene mutations identified in DNA from a child with mild phenotype. *Childs Nerv Syst*, 2012;28(6):943-6.
6. Sharafi P, Ayter S. Possible modifier genes in the variation of neurofibromatosis type 1 clinical phenotypes. *J Neurogenet*, 2018;32(2):65-77.
7. HJ M. The remaking of chromosomes. *The Collecting Net-Woods Hole*. 1938;13:181-98.
8. McClintock B. The Stability of Broken Ends of Chromosomes in *Zea Mays*. *Genetics*, 1941;26(2):234-82.
9. Blackburn EH, Greider CW, Szostak JW. Telomeres and telomerase: the path from maize, *Tetrahymena* and yeast to human cancer and aging. *Nat Med*, 2006;12(10):1133-8.
10. Lundblad V. Telomeres in the '80s: a few recollections. *Nat Struct Mol Biol*, 2006;13(12):1036-8.
11. Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, Dani M, Deaven LL, Jones MD, et al. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)<sub>n</sub>, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988;85(18):6622-6.
12. Palm W, de Lange T. How shelterin protects mammalian telomeres. *Annu Rev Genet*, 2008;42:301-34.
13. de Lange T. Shelterin-Mediated Telomere Protection. *Annu Rev Genet*, 2018;52:223-47.
14. Greider CW. Telomeres and senescence: the history, the experiment, the future. *Curr Biol*, 1998;8(5):R178-81.
15. Jones RE, Grimstead JW, Sedani A, Baird D, Upadhyaya M. Telomere erosion in NF1 tumorigenesis. *Oncotarget*, 2017;8(25):40132-40139.
16. Mantripragada KK, Caley M, Stephens P, Jones CJ, Kluwe L, Guha A, et al. Telomerase activity is a biomarker for high grade malignant peripheral nerve sheath tumors in neurofibromatosis type 1 individuals. *Genes Chromosomes Cancer*. 2008;47(3):238-46.
17. O'Callaghan NJ, Fenech M. A quantitative PCR method for measuring absolute telomere length. *Biol Proced Online*, 2011;13:3.
18. Trybek T, Kowalik A, Gozdz S, Kowalska A. Telomeres and telomerase in oncogenesis. *Oncol Lett*, 2020;20(2):1015-27.
19. Weischer M, Bojesen SE, Cawthon RM, Freiberg JJ, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Short telomere length, myocardial infarction, ischemic heart disease, and early death. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012;32(3):822-9.
20. Hochstrasser T, Marksteiner J, Humpel C. Telomere length is age-dependent and reduced in monocytes of Alzheimer patients. *Exp Gerontol*, 2012;47(2):160-3.
21. Mirabello L, Richards EG, Duong LM, Yu K, Wang Z, Cawthon R, et al. Telomere length and variation in telomere biology genes in individuals with osteosarcoma. *Int J Mol Epidemiol Genet*, 2011;2(1):19-9.
22. Shen M, Cawthon R, Rothman N, Weinstein SJ, Virtamo J, Hosgood HD, et al. A prospective study of telomere length measured by monochrome multiplex quantitative PCR and risk of lung cancer. *Lung Cancer*, 2011;73(2):133-7.
23. Capezzone M, Cantara S, Marchisotta S, Filetti S, De Santi MM, Rossi B, et al. Short telomeres, telomerase reverse transcriptase gene amplification, and increased telomerase activity in the blood of familial papillary thyroid cancer patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008;93(10):3950-7.
24. Monickaraj F, Aravind S, Gokulakrishnan K, Sathishkumar C, Prabu P, Prabu D, et al. Accelerated aging as evidenced by increased telomere shortening and mitochondrial DNA depletion in patients with type 2 diabetes. *Mol Cell Biochem*, 2012;365(1-2):343-50.
25. Yaffe K, Lindquist K, Kluse M, Cawthon R, Harris T, Hsueh WC, et al. Telomere length and cognitive function in community-dwelling elders: findings from the Health ABC Study. *Neurobiol Aging*, 2011;32(11):2055-60.
26. Zee RY, Castonguay AJ, Barton NS, Buring JE. Mean telomere length and risk of incident colorectal carcinoma: a prospective, nested case-control approach. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2009;18(8):2280-2.
27. Njajou OT, Hsueh WC, Blackburn EH, Newman AB, Wu SH, Li R, et al. Association between telomere length, specific causes of death, and years of healthy life in health, aging, and body composition, a population-based cohort study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2009;64(8):860-4.
28. Jafri MA, Ansari SA, Alqahtani MH, Shay JW. Roles of telomeres and telomerase in cancer, and advances in telomerase-targeted therapies. *Genome Med*, 2016;8(1):69.
29. Lai TP, Wright WE, Shay JW. Comparison of telomere length measurement methods. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2018;373(1741).
30. Engelhardt M, Drullinsky P, Guillem J, Moore MA. Telomerase and telomere length in the development and progression of premalignant lesions to colorectal cancer. *Clin Cancer Res*, 1997;3(11):1931-41.



## Küresel ölçekte farklı ülkelerden örneklerle sağlık kurumlarında su, sanitasyon ve hijyen sorunları

### Water, sanitation and hygiene issues in healthcare facilities on a global scale with examples from different countries

Emin ERKAL<sup>1</sup> (ID), Birgül PİYAL<sup>1</sup> (ID)

#### ÖZET

Dünya ölçeğinde su, sanitasyon ve hijyen hizmetlerine yeterli, güvenli ve sürdürülebilir şekilde erişim önemli bir halk sağlığı sorunudur. Sağlık kurumları da su, sanitasyon ve hijyen hizmetlerinin eksikliğinin en çok etkilediği birimlerdir. Küresel öngörüler sağlık tesislerinin üçte birinde, hasta bakımının sağlandığı yerlerde el hijyenini sağlamak için gerekenlerin olmadığına vurgu yapmaktadır. Her dört kurumdan birinde su hizmeti yoktur ve %10'unda sanitasyon hizmeti bulunmamaktadır. Bir başka anlatımla, 1,8 milyar insan temel su hizmetlerinden yoksun ve 800 milyon kişi de tuvaletsiz sağlık kurumlarından yararlanmaktadır. Sağlık çalışanları da uygun hizmet sunabilmek için yeterli ve güvenli suya ihtiyaç duymaktadır. İçme suyu olarak ve yemeklerde kullanım, el hijyeni, yıkanma ve çeşitli genel ve özel tıbbi kullanımların tümü, sağlık çalışanları ve hastalar için güvenilir su kaynakları gerektirmektedir. Sanitasyon, temiz içme suyunun sağlanması, insan dışkı ve kanalizasyonunun uygun arıtımı ve bertarafı ile ilgili halk sağlığı koşullarını ifade etmektedir. Sanitasyon sistemleri, özellikle fekal-oral yolla bulaşı durduracak temiz bir ortam sağlayarak insan sağlığını korumayı amaçlamaktadır. Sağlık

#### ABSTRACT

Adequate, safe and sustainable access to water, sanitation and hygiene services is an important worldwide public health issue. Healthcare facilities are also the units most affected by the lack of water, sanitation and hygiene services. Global projections highlight that one-third of healthcare facilities lack what is necessary to ensure hand hygiene where patient care is provided. One out of every four institutions does not have water service and 10% do not have sanitation service. In other words, 1.8 billion people lack basic water services and 800 million people has to use sanitary facilities without toilets. Healthcare workers also need adequate and safe water to provide appropriate services. As drinking water and for meals, hand hygiene, washing, and a variety of general and specific medical uses all require reliable sources of water for healthcare workers and patients. Sanitation refers to public health conditions related to the provision of clean drinking water and the appropriate treatment and disposal of human excreta and sewage. Sanitation systems aim to protect human health by providing a clean environment that will stop transmission, especially by fecal-oral route. The most important step of the hygiene service in healthcare

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı AD., Ankara



İletişim / Corresponding Author : Emin ERKAL

Ankara Üni. Cebeci Hastanesi Pediatri Akademik Bina 3.kat Halk Sağlığı AD., Ankara - Türkiye

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

Geliş Tarihi / Received : 05.08.2021

Kabul Tarihi / Accepted : 19.09.2022

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.68790

Erkal E, Piyal B. Küresel ölçekte farklı ülkelerden örneklerle sağlık kurumlarında su, sanitasyon ve hijyen sorunları. Turk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(3): 373 - 386

tesislerinde hijyen servisinin en önemli basamağı etkili el hijyenidir. Etkili el hijyeni, enfeksiyon önleme ve kontrol (EÖK) kılavuzlarının ve uygulamalarının temel taşıdır ve sağlık hizmetleriyle ilişkili enfeksiyonları ve antimikrobiyal direncin yayılmasını önlemek için birincil önlem olarak kabul edilmektedir. Sağlık çalışanları, çok sayıda hastaya baktıkları ve bu süreçte kan ve diğer vücut sıvılarıyla temas edebildikleri için el hijyenini geliştirme, çabaların ana hedefidir. Ellerin sabunla yıkanması gibi dışkı ile insan temasının önlenmesi de sanitasyonun bir parçasıdır. Sağlık kuruluşlarının, sağlık tesisine başvuranların kullandığı tuvaletlerde ve diğer ihtiyaçlarını karşılayabilecekleri yerlerde suyu ve sabunu olan el yıkama imkânı sağlaması önemlidir. Bu hizmetlere erişimin iyileştirilmesi, sağlığı, yaşam beklentisini, eğitimi, cinsiyet eşitliğini ve uluslararası kalkınmanın diğer önemli hedeflerini desteklemektedir. Bu çalışmada; sağlık kurumlarında su, sanitasyon ve hijyen hizmetlerinin durumunun küresel boyutta sunulması amaçlanmıştır. COVID-19 pandemisini doğaya zarar vermeden ve tam anlamıyla kontrol altına alabilmek için gerekli temel reçetelerden biri de bu kurumlarda su, sanitasyon, hijyen ve enerji hizmetlerine yatırım yapmaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Sağlık kurumları, su, sanitasyon, hijyen

facilities is effective hand hygiene. Effective hand hygiene is the cornerstone of infection prevention and control (IPC) guidelines and practices and is recognized as a primary measure to prevent healthcare-associated infections and the spread of antimicrobial resistance. Healthcare professionals are the main target of efforts to improve hand hygiene, as they care for large numbers of patients and may come into contact with blood and other bodily fluids in the process. Like washing hands with soap, avoiding human contact with faeces is also part of sanitation. It is important that healthcare facilities provide handwashing facilities with soap and water in the toilets for healthcare facility applicants and in the restrooms where they can meet their other needs. Improving access to these services supports health, life expectancy, education, gender equality and other important goals of international development. In this study, it aims to present the situation of water, sanitation and hygiene services in healthcare facilities on a global scale. One of the essential methods required to take the COVID-19 pandemic under full control without harming the nature is to invest in water, sanitation, hygiene and energy services in these facilities.

**Key Words:** Healthcare facilities, water, sanitation, hygiene

## GİRİŞ

WASH (veya Watsan, WaSH); “su, sanitasyon ve hijyen” anlamına gelen bir kısaltmadır. WASH’a evrensel, uygun fiyatlı ve sürdürülebilir erişim, uluslararası kalkınma için de önemli bir halk sağlığı sorunudur ve Sürdürülebilir Kalkınma Hedefi 6 (SDG 6)’nın odak noktasıdır (1). WASH’a erişim; güvenli su, yeterli sanitasyon ve hijyen eğitimi içerir. WASH hizmetlerine erişimin iyileştirilmesi sağlığı, yaşam

beklentisini eğitimi, cinsiyet eşitliğini ve uluslararası kalkınmanın diğer önemli hedeflerini destekler (2).

Küresel öngörülere göre sağlık tesislerinin üçte birinde, hasta bakımın sağlandığı yerlerde el hijyenini sağlamak için gerekenler yoktur. Her dört tesisten birinde su hizmeti yoktur ve %10’unda sanitasyon hizmeti bulunmamaktadır. Bir başka anlatımla, 1,8 milyar insanın temel su hizmetlerinden yoksun sağlık tesisi ve 800 milyon kişi tuvaletsiz sağlık tesislerini kullanmaktadır. Dünyanın en az gelişmiş 47

ülkesinde sorun daha da büyüktür. Bu ülkelerde sağlık tesislerinin yarısı temel su hizmetlerinden yoksundur. Ayrıca, özellikle çevre temizliği konusunda olmak üzere tüm verilerdeki büyük eksiklikler sürdüğü için sorunun boyutu gizli kalmaktadır (3,4).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2015 yılında, 663 milyon insanın hala güvenli ve temiz içme suyuna erişimi yokken, edinilen veriler doğrultusunda dünya üzerindeki her üç kişiden birinin veya 2,4 milyar kişinin hala yeterli sanitasyondan yoksun olduğu öngörüsünde bulunmuştur. Bu kestirim 2017'de, yeterli sanitasyonla ulaşımı olmayan 2,3 milyar kişi ve temiz içme suyuna erişimi olmayan 844 milyon kişi olarak güncellenmiştir (5,6).

DSÖ ve Birleşmiş Milletler Çocuklara Yardım Fonu (UNICEF)'nin Su Sağlanması, Sanitasyon ve Hijyen için Ortak İzleme Programı (JMP), 1990 yılından bu yana, düzenli olarak WASH ile ilgili küresel kestirimler üretmektedir. JMP, Birleşmiş Milletler (BM)'in güvenli içme suyuna ve temel sanitasyona sürdürülebilir erişimi olmayan nüfus oranını 2015 yılına kadar yarıya indirmeyi hedefleyen Milenyum Kalkınma Hedefi (MDG) 7.C'yi izlemekten sorumludur. Bunun yerini 2016 yılında, 2030 Sürdürülebilir Kalkınma Hedeflerinden (SDG) hedef 6 herkes için su ve sanitasyonun kullanılabilirliğini ve sürdürülebilir yönetimini sağlamayı almıştır (7,8).

Bu çalışmanın amacı; sağlık kurumlarında su, sanitasyon, hijyen hizmetlerinin durumunu ve sorunlarını küresel boyutta, dünyanın çeşitli bölgelerinden farklı örneklerle sunmaktır. Günümüzde elde edilen veriler; su, sanitasyon ve hijyen konusundaki her başlıkta küresel olarak kabul edilmek için yeterli olmamasına rağmen, sahip olunan veriler ışığında çıkarımlar yapmak mümkündür.

### 1. Sağlık Tesislerindeki Su İhtiyacı

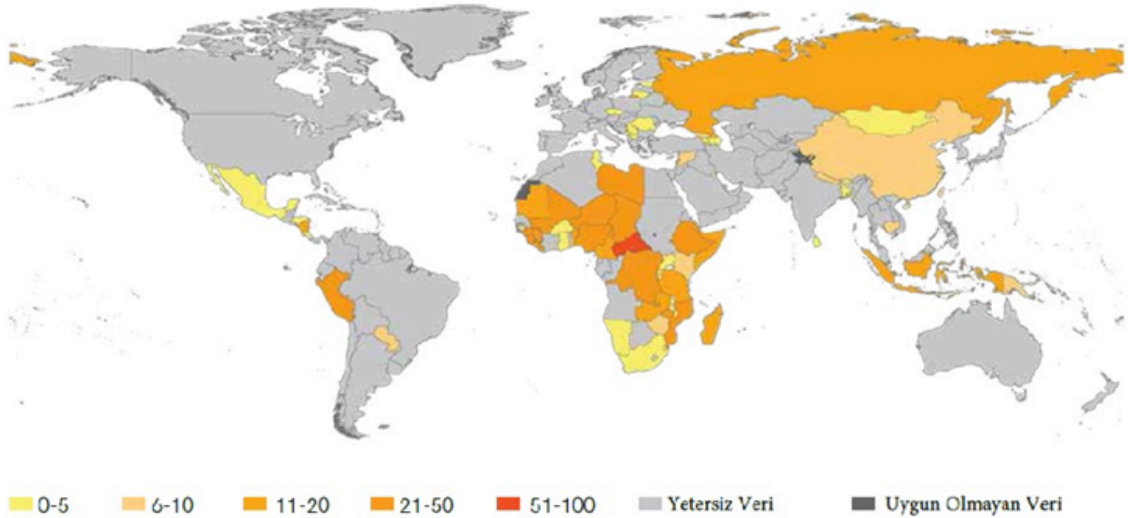
Sağlık kurumlarında çalışanların sağlık hizmetlerini uygun bir şekilde sağlayabilmek için yeterli ve güvenli suya gereksinimleri vardır. İçme suyu olarak ve yemeklerde kullanım, el hijyeni, yıkanma ve çeşitli genel ve özel tıbbi kullanımların

tümü, sağlık çalışanları ve hastalar için güvenilir su kaynakları gerektirmektedir. Ayrıca sağlık tesislerinin temizliğinde de temiz su kaynağı çok önemli bir rol oynar. Yeterli ve güvenilir su bir sağlık kurumu için vazgeçilmezdir (9-12).

DSÖ ülkelerin verilerine göre su sağlanması açısından sağlık kurumlarını “temel hizmetleri var”, “sınırlı hizmetleri var” veya “hizmete ulaşımı yok” olarak sınıflandırmıştır. Bu sınıflardan “temel hizmetleri var” düzeyi yüksek standartlarda bir hizmet olmamakla birlikte güvenli su sağlayabilecek sistemlerin olması durumunu bildirir. Güvenilir borularla suyun tesise taşınması, yağmur suyunun kullanımı veya temiz suyun ambalajlanmış bir şekilde ulaştırılması suyun yeterli olduğu durumlarda tesis su temini açısından “temel hizmetleri var” kabul edilir. Sağlık kurumu; güvenilir bir su kaynağı tesise en fazla 500 metre uzakta ancak su ihtiyacı açısından temel ihtiyaçların hepsi giderilemiyorsa “sınırlı hizmeti var” ve sağlık tesisinin su ihtiyacı güvensiz bir su kaynağından sağlanıyorsa, güvenilir su kaynağı tesise 500 metreden daha uzaksa veya tesisin suya erişimi yoksa “hizmete ulaşımı yok” sınıfına girmektedir (13).

DSÖ ve UNICEF'in birlikte oluşturdukları “Su Temini ve Sanitasyon için Ortak İzleme Programı” (JMP) raporlarına göre küresel olarak, 2016 yılında sağlık tesislerinin %74'ü temel su hizmetlerine sahiptir. Her sekiz sağlık tesisinden birinin (%12) su ihtiyacını karşılayacak hizmete ulaşımı yoktur ve sağlık tesislerinin geri kalan %14'ünün sınırlı hizmete ulaşımı vardır. Temel su hizmetleri kapsamı Sahra Altı Afrika'da %51 iken Doğu ve Güneydoğu Asya'da %87 civarındadır (Şekil 1) (13,14).

Bazı ülkelerde, sağlık tesislerinin büyük bir kısmının temiz ve güvenilir bir su kaynağına sahip olmasına karşın, bu kaynaklar ya tesisin dışındadır ya da su her zaman mevcut değildir. Örneğin, 2016 yılında Kamboçya'daki sağlık tesislerinin %94'ünün temiz ve güvenilir su kaynaklarına erişimi varken yalnızca %55'i ihtiyaç olduğu anda yeterli suya tesise ait olan kaynaktan ulaşabilmektedir. Aynı yıl, Honduras'taki tesislerin %99'u güvenilir su



Şekil 1. 2019 yılına ait verilere göre su hizmeti olmayan sağlık tesislerinin oranı (%) (3)

kaynaklarına erişimi varken aynı sebeplerle tesislerin sadece %58'i bu kaynaklardan temin edilen suyu kullanabilmektedir. Küresel olarak bakıldığında, 2016 yılında sağlık tesislerinin %89'u güvenilir bir su kaynağı kullanmaktadır; su kaynaklarının %78'i tesislerde bulunmaktaydı ve tesislerin %83'ünde su vardır. Bu, sadece ihtiyaç duyulan yerde altyapının sağlanmasının değil, aynı zamanda bakımının ve düzgün bir şekilde çalıştırılmasının da önemini göstermektedir (13).

Sekiz SDG bölgesinden sadece üçünün ve toplamda 52 ülkenin, 2019'da sağlık tesislerindeki temel su hizmetlerinin kapsamı hakkında kestirimde bulunmak için yeterli verisi vardır. Ancak birçok veri farklı açılardan yetersizdir. Verilerin bir kısmı su kaynağının tesisin içinde olup olmadığı ve suyun hangi yöntemlerle sağlandığını içermemektedir. Küresel nüfusun %44'ünü temsil eden 78 ülkenin, 2019 yılında su hizmeti olmayan sağlık tesislerinin oranını öngörmek için yeterli verisi bulunmaktadır (3).

### 1.1. Sağlık Tesislerinde Su Hizmetinin Durumuna İlişkin Diğer Göstergeler

Temel su hizmeti göstergesi yararlı bir başlangıç noktası oluşturur, ancak su sağlanmasının kalite,

süreklilik ve yeterlilik gibi birçok önemli yönünü içermemektedir. Pek çok sağlık kuruluşunda, temel su hizmeti düzeyi karşılanmış durumdadır, ancak hala su hizmetlerinin iyileştirilmesi gerekmektedir. Ülkeler, önceliklerine ve mevcut kaynaklara bağlı olarak daha gelişmiş hizmet düzeylerine karşılık gelen ek göstergeleri dikkate almalıdırlar (10).

**1.1.1. Borular Aracılığıyla Tesise Bağlı Güvenilir Su Kaynağı;** İdeal olarak, hastaneler başta olmak üzere tüm sağlık kurumlarının borular aracılığıyla güvenilir su sağlayabilmesi gerekir, ancak bazı ülkelerde bu hizmet çoğu tesiste bulunmamaktadır. Tüm SDG bölgelerinde, hastanelerin %60'ından daha azının borularla binaya bağlı su kaynağının olduğu ve yine aynı bölgelerde diğer sağlık tesislerinde bu oranın %25'ten daha az olduğu bildirilmiştir (13).

**1.1.2. Suyun Niteliği;** Altyapıya borularla bağlı olduğu durumda bile su kaynakları kirlenebilir. Sağlık tesislerinde bulunan su uygun ulusal standartları veya DSÖ'nün İçme Suyu Niteliği Kılavuzunda belirtilen değerleri karşılamalıdır. Bununla birlikte temel su hizmetine sahip olmak mutlaka su kalitesi standartlarının karşılandığı anlamına gelmez (12,14).

Örneğin, 2016'da Butan'daki hastanelerin yarısından fazlasında temel su hizmeti varken, bu hastanelerin yalnızca %59'unda su güvenlidir. Lübnan'daki halk sağlığı merkezlerinin 2016 yılında yaptığı değerlendirmenin sonuçlarına göre, ülkedeki sağlık tesislerin %61'i temel su hizmeti vardır, ancak her dört tesisten birinin su örneğinde fekal kontaminasyon bulunmuştur. Su, hastane ulaşım ağı içinde de kontamine olabileceği düşünülebilir. Hastanelerin tümünün borulu su sistemi olan Kosta Rika'da 2017 yılında, tesislere giren sudan alınan örneklerden %3'ü ulusal standartlara uygunsuz bulunmuştur. Ayrıca her sekiz sağlık tesisinin birinde standartlara uymayan su borusu sistemi bulunmuştur. Bu aynı zamanda su numunelerinin test için nerede (ve ne zaman) toplandığının önemini vurgulamaktadır (13).

Su güvenliği planları, örneğin tesiste arıtma uygulayarak suyun niteliğine yönelik risklerin azalmasına yardımcı olabilir. Su güvenliği planları ayrıca, çapraz kontaminasyonu önlemeye ve Legionella spp. gibi dağıtım sistemlerindeki biyofilmlerde gelişebilen patojen mikroorganizmaların kontrol etmeye yardımcı olur (15,16).

**1.1.3. Suyun Devamlılığı;** Sürekli su temini, özellikle acil bakım ve doğumhaneler olmak üzere tüm sağlık tesislerinde kritik öneme sahiptir, ancak temel su hizmetlerine sağlık tesislerinde her zaman sağlanamamaktadır. JMP, suyun çoğu zaman kullanılabilir olduğunu bildiren tesisleri (örneğin, günde en az 12 saat, haftada dört gün veya ayda 15 gün) "sürekli su temini mevcut" olarak sınıflandırmaktadır. Uganda'da, tesislerin %90'ının izlemdeki bir ay boyunca iki veya daha fazla saat susuz olan 15 ya da daha az gün vardı ve "sürekli su temini mevcut" olarak sınıflandırılmakta; %70'inin bir ay boyunca her gün sürekli suyu bulunmaktadır. Kenya'daki sağlık tesislerinin sadece %2'si izlemdeki üç ay boyunca 90 günün 45 günü ya da daha fazlasında iki ya da üzerinde saat susuz kalmakta; %70'i de yine izlem kapsamındaki 90 gün içinde her gün "sürekli su temini mevcut" olarak değerlendirilmektedir (13,

14).

Su depolama, kısa süreli kesintileri azaltmaya, mevsimsel kıtlıkların etkisini azaltmaya ve iklim değişikliğine karşı dayanıklılığı artırmaya yardımcı olabilir, ancak depolama kapasiteleri her zaman yeterli değildir. Örneğin, Bhutan'daki hastanelerin %82'sinde 2016 yılında su deposu olmasına karşın; tesislerin %39'u her yıl ciddi bir su sıkıntısı veya eksikliği ile karşı karşıya kalmaktadır. Kamboçya'da 2010 yılında, sağlık tesislerinin %78'inin su deposu varken yarısından fazlasının (%51) yıl boyunca yeterli suyu yok olduğu görülmektedir (13).

**1.1.4. İçme Suyu;** Su tüketimi tıbbi tedavinin (örneğin ilaç kullanımı), iyileşmenin ve sağlığın korunmasının önemli bir parçasıdır. Su besinleri hücrelere taşır, organları korur ve atıkları temizlemeye yardımcı olur. Kadınların özellikle, doğum sırasında ve emzirirken artan miktarlarda içme suyu gereksinimleri olabilir. Sağlık tesisleri, özellikle yataklı servis hizmeti olanlar; hastalara, personele ve ziyaretçilere yeterli miktarda güvenli içme suyu sağlamalıdır. Ancak dünya çapında birçok ülkede sağlık tesisleri bu şartı sağlamakta zorlanmaktadır. Örneğin, Bangladeş'te, hastanelerin %79'unda genel kullanım için içeride bulunan gelişmiş (su borularıyla sağlanan) bir su kaynağı vardır, ancak sadece %59'unda bu tip kaynaktan hastalar ve personel için içme suyu sağlanabilmektedir (10,13).

## 2. Sağlık Tesislerinde Sanitasyon

Sanitasyon, temiz içme suyunun sağlanması, insan dışkısı ve kanalizasyonunun yeterli arıtımı ve bertarafı ile ilgili halk sağlığı koşullarını ifade eder. Ellerin sabunla yıkanması gibi dışkı ile insan temasının önlenmesi de sanitasyonun bir parçasıdır. Sanitasyon sistemleri, özellikle fekal-oral yolla bulaşı durduracak temiz bir ortam sağlayarak insan sağlığını korumayı amaçlamaktadır (17). Örneğin, çocuklarda yetersiz beslenmenin ve büyümenin etkilenmesinin ana nedeni olan ishal, yeterli sanitasyonla azaltılabilmektedir (18).

Bir sanitasyon sistemi, insan dışkısının ve atık suyun tutulması, depolanması, taşınması, arıtılması ve bertarafı veya yeniden kullanımını içerir. Sanitasyon sistemindeki yeniden kullanım faaliyetleri, dışkı ve atık suda bulunan besinler, su, enerji veya organik maddeye odaklanır. Bu, “sanitasyon değer zinciri” veya “sanitasyon ekonomisi” olarak adlandırılmaktadır (19,20).

Ülkeler içinde veya ülkeler arasında sanitasyon hizmet seviyelerini karşılaştırmak için çeşitli sanitasyon “seviyeleri” kullanılmaktadır. JMP tarafından 2016 yılında tanımlanan sanitasyon seviyesi merdiveni açık dışkılama ile başlar ve “gelişmemiş”, “sınırlı”, “temel” terimlerini kullanarak yukarı doğru hareket eder ve en yüksek seviye “güvenli yönetim”dir. Bu sınıflandırma özellikle gelişmekte olan ülkeler için geçerlidir (21).

JMP'nin 2017 yılı öngörüsüne göre, günümüzde 4,5 milyar insanın sanitasyonunun güvenli bir şekilde yönetilmemektedir. Sanitasyona erişim eksikliğinin yalnızca halk sağlığı üzerinde değil, aynı zamanda kişisel güvenlik üzerinde de etkisi bulunmaktadır (13,22).

Sağlık tesislerindeki sanitasyon hizmetleri, hastaların ve personelin sağlığını, refahını ve saygınlığını artırır ve sağlık sonuçlarını iyileştiren yüksek nitelikli bir bakım sunabilmek için gereklidir. Sağlık tesislerinde yetersiz sanitasyon, insanların ihtiyaç duyduklarında sağlık hizmeti alamamasına yol açabilir ve sağlık çalışanlarının iş memnuniyetini azaltabilir. Hastaların hareket kabiliyeti sınırlı olabilir ya da ameliyat veya doğumdan sonra tuvaletlerin güvenli ve rahat kullanımını kolaylaştırmak için uyarlanmış altyapıya ihtiyaç duyabilirler (13).

Dışkı, ishale seyreden hastalıklara (kolera ve shigellosis gibi) ve diğer birçok bulaşıcı hastalığa neden olan bakteri, virüs ve parazitlerin başlıca kaynağıdır. Sağlık tesislerine başvuran hastaların genellikle bağışıklık sistemleri zayıftır ve özellikle fekal patojenlerin enfeksiyonuna karşı savunmasızdır. Sağlık çalışanları için de işyerinde fekal patojenlere maruz kalmaları birçok riski barındırmaktadır.

Sanitasyon, fekal patojenlerin sağlık tesisi ortamını veya çevresini kirletmesini engellemek için özellikle önemlidir (13,23).

Lübnan'da 2017 yılında kurumsal ortamlarda ve kamusal alanlarda WASH koşullarının inceleyen bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışma, neredeyse tüm halk sağlığı merkezlerinin (%96) bir tür temizlik tesisine sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte, tesislerin yalnızca %83'ünün geliştirilmiş hizmetleri bulunmakta ve %18'i “sanitasyon hizmeti yok” olarak sınıflandırmaktadır. Geliştirilmiş hizmetleri olan tüm halk sağlığı merkezlerinde tuvaletler kullanılabilir ve çoğu durumda kadınlar, erkekler ve personel için ayrı tuvaletler bulunmaktadır. Ancak görece daha azının menstruel hijyen tesisleri bulunmakta ve daha da azı yeti yitimi olan bireyler için uygundur (13).

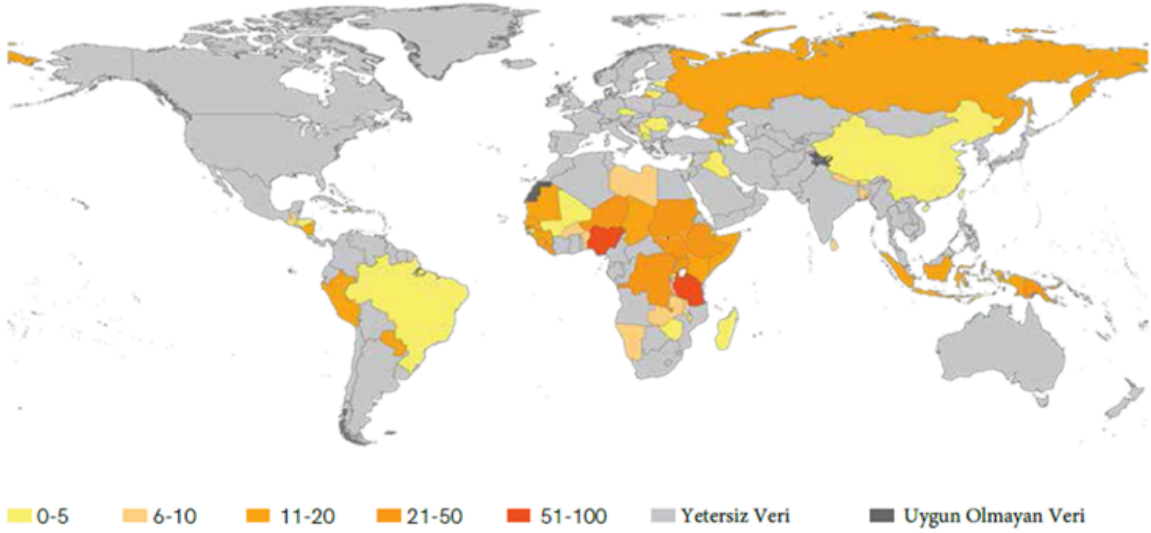
### 2.1. Temel Sanitasyon Hizmetleri

DSÖ'nün raporunda, sanitasyon hizmeti bulunmayan sağlık tesislerinin oranına ilişkin veriler 65 ülkeden elde ederek küresel nüfusun %59'unu temsil etmekte ve küresel bir kestirimde bulunmak için yeterli bulunmaktadır (Şekil 2). Geliştirilmiş ve kullanılabilir sanitasyon olanakları olan sağlık tesislerinin oranı için küresel bir öngörü bu verilerle mümkündür (48 ülke, küresel nüfusun %35'ini temsil etmekte). Ancak çok daha az sayıda ülkenin sağlık tesisleri; kadınlar için ayrılmış sanitasyon tesisleri (19 ülke, 0,5 milyar insanı temsil etmekte), yeti yitimi için uyarlanmış personel ve tuvaletler (her biri 17 ülkede, 0,4 milyar kişiyi temsil etmekte) ve menstrual hijyen için kolaylıklar sağlayan cinsiyete göre ayrılmış tuvaletler (0,2 milyar kişiyi temsil eden on ülke) açısından yeterli verisi içermektedir.

Ayrıca temel sanitasyon hizmetleri için yalnızca 18 ülke için kestirim yapılabilmekte ve küresel nüfusun %7'sini yansıtmaktadır (13,24).

Küresel olarak 2016 yılında sağlık tesislerinin beşte birinden fazlasının (%21) sanitasyon hizmeti bulunmamakta, bu da geliştirilmemiş tuvaletleri olduğu ya da tuvaletlerinin olmadığı anlamına gelmektedir. Bir başka anlatımla sağlık tesislerinde





Şekil 2. 2019 yılına ait verilere göre sanitasyon hizmeti olmayan sağlık tesislerinin oranı (%)

sanitasyon hizmeti olmayan 1,5 milyardan fazla insanı yansıtılmaktadır (25).

## 2.2. Geliştirilmiş Sanitasyon Hizmetleri

Temel sanitasyon hizmetlerinin tanımı ağırlıklı olarak, sağlık tesislerinin geliştirilmiş ve kullanılabilir sanitasyon tesislerinin olması gereğine vurgu yapmaktadır. “Geliştirilmiş” sanitasyon tesisleri, dışkıyı insan teması olmadan hijyenik olarak ayırmak için tasarlanmıştır. Geliştirilmiş tesisler, hem suyla çalışan sistemleri (borulu kanalizasyon sistemlere, septik tanklara veya özel çukurlara bağlı sifon sistemli tuvaletler) hem de susuz sistemleri (havalandırmalı geliştirilmiş çukur tuvaletler, döşemeli kuru çukur tuvaletler veya kompost tuvaletler) içermektedir. “Geliştirilmemiş” tesisler arasında döşeme veya platform bulunmayan çukur tuvaletler, “asılı tuvaletler” ve “kova tuvaletler” yer almaktadır (13,26).

Sanitasyon teknolojileri ülkeler arasında büyük farklılıklar göstermektedir; Senegal’de, çoğu sağlık tesisinin yerinde septik tanklı ve suyla çalışan sistemleri varken, Bangladeş’teki sağlık tesislerinde yaklaşık eşit oranda kanalizasyon bağlantılı tuvaletler,

septik tanklar ve çukur tuvaletler bulunmaktadır. Buna karşılık, Haiti, Malawi ve Birleşik Tanzanya Cumhuriyeti’nde susuz tuvaletler daha yaygındır (13).

Bazen sağlık tesislerinde tuvaletler vardır, ancak kullanılmamaktadır. Kullanılabilir olması için tuvaletler kullanılabilir, işlevsel ve özel olmalıdır. Tuvaletlerin, içeriden kilitlenebilen ve kapanabilir kapılarının olması gereklidir. Ayrıca duvarlarda büyük boşluklar veya delikler varsa kişisel gizliliğe uygun olmadığı için “kullanılamaz” olarak kabul edilebilmektedir (26). Örneğin, Bangladeş’te 2017 yılında yapılan bir ulusal değerlendirmede, toplum kliniklerinin %99’unun en az bir tuvaletinin olduğu, ancak kliniklerin %28’den fazlasının işlevsel bir tuvaletinin olmadığı saptanmıştır. Bu, sağlık tesislerinde basitçe sanitasyon altyapısı oluşturmanın ötesine geçmenin ve hastaların ve personelin gerektiğinde kullanabilmesi için tuvaletlerin düzenli bakımını sağlamanın zorluğunu göstermektedir (27).

Temel sanitasyon hizmet seviyesi, tuvaletlerin farklı kullanıcı türleri için kullanılabilir olmasını gerektirir. Sağlık tesislerindeki personelin, özellikle salgınlar sırasında enfeksiyon riskini azaltmak için



özel tuvaletleri olmalıdır. Kadınlar ve erkekler tuvaletleri mahremiyet içinde kullanabilmelidir. Bu en basit şekilde kadınlar ve erkekler için ayrı tuvaletlerin olmasıyla sağlanabilir. Bununla birlikte, özellikle küçük tesislerde, tek bir özel tuvalete sahip bir “cinsiyetsiz” oda, kadınların ve erkeklerin tuvaleti özel ve ayrı olarak kullanılmasına izin verdiği için cinsiyetlere özel ayrılmış olarak kabul edilir. Kadınlar için olan tuvaletlerde menstrual hijyen yönetimi için olanak sağlanmalıdır. Kullanılmış menstrual hijyen ürünlerinin bertarafı için kapaklı bir çöp kutusu ve temizlik için özel bir alanda su ve sabun olmalıdır. Tuvaletler, ulusal standartlara göre yeti yitimi olanlar için kullanılabilir olmalıdır. Ulusal standartların yokluğunda, tuvaletler merdiven veya basamak olmadan erişilebilir olmalı, en az 80 cm genişliğinde bir kapısı olmalı ve zemine veya yan duvarlara bağlı korkuluklar veya diğer kılavuzlar olmalıdır. Bir sağlık tesisinin temel sanitasyon hizmeti ölçütlerini karşılayabilmesi için en az iki tuvaleti olmalıdır. Bu tuvaletlerden biri personel için ayrılmış olmalı ve ikinci tuvalet de menstrual hijyen olanakları olan ve sınırlı hareket yeterliliğinde bireyler için erişilebilir “cinsiyetsiz” bir tuvalet olmalıdır (13,14).

### 2.3. Sağlık Tesislerinde Sanitasyonun İzlenmesi İçin Ek Göstergeler

Su hizmetlerinde olduğu gibi devletler sağlık hizmetlerinde de kendi standartlarını belirlemelidirler. Küresel izleme göstergeleri temel sanitasyon hizmetleri için kriterler içerir, ancak tuvaletlerin yeterli sayıda olması, atık yönetimi, tuvalet temizliği ve menstrual hijyen yönetimi ile ilgili ek ayrıntılar gibi sanitasyonun önemli yönlerini içermemektedir. Temel hizmet seviyesinin zaten karşılandığı sağlık tesislerinde, sanitasyon hizmetlerinin geliştirilmesi gerekebilmektedir (13).

**2.3.1. Tuvalet Sayısı;** Temel sanitasyon hizmetlerinin küresel göstergesi, poliklinik ortamlarında en az iki tuvalete sahip olarak karşılanabilir (personel için ayrılmış bir tuvalet ve menstrual hijyen olanakları olan ve sınırlı hareket kabiliyetine sahip insanlar için

erişilebilir olan “cinsiyetsiz” bir tuvalet). Sadece poliklinik hizmeti veren küçük bir sağlık tesisi için iki tuvalet yeterli olabilir, ancak daha büyük tesislerin daha fazla tuvalete ihtiyacı vardır. Küresel normlar, yataklı birimlerde her 20 kullanıcı için en az bir tuvalet çağrısında bulunuyor ve tüm kullanıcılara en fazla 30 metre mesafede bir tuvalet olmasını öneriyor (10,13).

**2.3.2. Kanalizasyon Bağlantısı;** Özellikle kentsel alanlardaki birçok hastane ve diğer büyük sağlık tesisleri belediyeye ait kanalizasyon sistemlerine bağlıdır. JMP'nin raporuna göre hastane kanalizasyon bağlantılarına ilişkin veriler bulunan 20 ülkeden, dört ülkedeki hastanelerin tamamı kanalizasyon altyapısına bağlıyken, 11 ülkedeki hastanelerin yarısından azı ve yedi ülkede dörtte birinden azı kanalizasyon bağlantılarına sahiptir (13).

**2.3.3. Fekal Atık Yönetimi;** Kanalizasyon bağlantıları olmayan tesislerin, toplanan atıkları, septik tanklar ve çukur tuvaletler gibi sistemlerde yönetmesi gerekir. Gelişmiş saha içi atık su arıtma tesisleri yüksek düzeyde bir arıtma seviyesi sağlayabilir. Bununla birlikte süreç kötü yönetildiğinde tesis içi sistemlerden gelen dışkı ve atıklar, özellikle kolera gibi hastalıkların yüksek endişe kaynağı olduğu yerlerde, sağlık tesislerini hastalıklar için bulaşma merkezlerine dönüştürebilir. Sağlık tesislerinden gelen atık su ve dışkı, çoğunlukla yüksek düzeyde tehlikeli biyolojik ve kimyasal kirleticiler ve antimikrobiyal kalıntılar içermektedir ve tarımda asla kullanılmamalıdır (28). Ancak, sağlık tesisi tuvaletlerinden gelen atığın varış yeri nadiren izlenmektedir ve bazı ortamlarda yeniden kullanım yaygındır. Afganistan'da 2009 yılında yapılan bir değerlendirme, temel sağlık merkezlerinin üçte ikisinin dışkı atığını gübre olarak kullandığını ortaya çıkarmıştır (13).

**2.3.4. Hasta Memnuniyeti;** Hastalar bir sağlık kuruluşundaki tuvaletlerin uygun durumda olmadığını hissedersen, kullanmaktan kaçınabilir ya da tesise başvurmamayı seçebilirler. Bu, açık dışkılamaya ya da tuvalet gereksinimlerini erteleyen kişilerin

idrar kaçırma ve idrar yolu enfeksiyonları gibi sağlık sorunlarına yol açabilir. Yetersiz temizlik, kişisel gizliliğin olmayışı, yetersiz erişilebilirlik, yetersiz aydınlatma, menstrual hijyen olanaklarının olmaması ve bebek alt değiştirme istasyonlarının olmaması gibi başvuranların sağlık tesisi tuvaletlerinden hoşnutsuz olmasının birçok nedeni olabilmektedir (14).

### 2.3.5. Tuvalet Temizliği;

Temiz tuvaletlerin hastalar ve personel tarafından kullanılması daha olasıdır. Tersine, kirli tuvaletler kullanıcılar arasında hastalık bulaşmasına neden olabilir, özellikle sağlık tesislerindeki tuvaletler çok sayıda patojenin bulaşı için riskli alanlardır. Bazı ülkelerde, sağlık tesislerinde tuvalet temizliği eğitilmiş görevliler tarafından denetlenir. Bununla birlikte, tuvaletlerin temizliği için gösterge tanımları değişiklik gösterir ve ülkeler arası karşılaştırma için daha fazla çalışmaya gereksinim vardır. Örneğin, Filipinler'deki değerlendirmelerde, gözlem sırasında klozetlerin, tavanın, zeminin ve duvarların temiz olarak değerlendirilmesi durumunda tuvaletler "temiz" olarak sınıflandırılmıştır. Ancak Lübnan'daki değerlendirmede, bir sağlık tesisi tuvaletinde güçlü bir koku, önemli sayıda sinek veya görünür dışkı belirtisi yoksa tesisin tuvaletleri "temiz" olarak sınıflandırmıştır. Ayrıca tesisteki her tuvalette olmamak şartıyla bazı tuvaletlerde koku ve/veya dışkı belirtisi varsa tuvaletler "biraz temiz" olarak tanımlanmıştır (13).

Sağlık tesisleri için küresel standartlar, tuvaletlerin kirlendikleri her durumda ve günde en az iki kere olmak üzere dezenfektan ve fırça kullanılarak temizlenmesini önerir. DSÖ'nün raporuna göre Lübnan'daki sağlık tesislerinden %81'inin tuvaletleri günde en az iki kez temizlenmektedir. Bu tesislerin %78'inin temiz tuvaletleri vardır. Bhutan'daki hastanelerde, yataklı servis tuvaletlerinin üçte ikisi günde en az iki kez temizlenirken, poliklinik tuvaletlerinin yaklaşık yarısında ve danışma alanlarındaki tuvaletlerin üçte birinde bu şartlar sağlanabilmiştir. Tanzanya'da 2016 yılında yapılan bir değerlendirmede, kişilerin

kullanımdan sonra tuvaletleri genellikle temiz bırakmadığına dair raporlara atıfla temizlik ve genel hijyenin yanı sıra eğitim ve bilinçlendirme gereksinimi vurgulanmıştır (10,13).

**2.3.6. Menstrual Hijyen Hizmetleri;** Menstrual hijyen yönetimi için gereken tesis ve hizmet türleri duruma ve kişiye özgüdür. Bazı kadınlar tampon ve ped gibi tek kullanımlık ürünler, bazıları da yıkanabilir kumaş bez veya menstrual kap gibi yeniden kullanılabilir malzemeler kullanır. Sağlık kuruluşları farklı menstrual hijyen tercihleri olan kişileri barındırabilmelidir. Temel bir sanitasyon hizmeti seviyesi, tek kullanımlık menstrual hijyen malzemeleri için bir çöp kutusuna ve temizlik için sabun ve su içeren özel bir alana sahip olmayı içerirken, bazı ülkeler yerel ihtiyaçlara ve önceliklere dayanarak menstrual hijyeninin farklı yönlerine odaklanır. Örneğin, UNICEF'in raporuna göre Lübnan'daki sağlık tesislerinin sadece üçte birinden fazlası 2016 yılında menstrual hijyen yönetimi için su, sabun, gizlilik ve atık için kapalı kutular da dahil olmak üzere temel olanakları sağlamaktadır. Hijyenik pedlerin güvenli bir şekilde bertarafı konusunda eğitim gibi ek hizmetler çok daha az sayıda sağlık tesisi tarafından verilmektedir (13,14).

İngiliz Tabipler Birliği tarafından 2018 yılında yapılan bir araştırma, Birleşik Krallık'taki hastane vakıflarının ve sağlık kurumlarının yalnızca %56'sının hastalara rutin olarak hijyenik menstrual ürünleri ücretsiz olarak sağladığını ortaya koymuştur. Ek olarak acil durumlarda vakıf ve kurumların %29'unun bu ürünleri sağladığını belirtmiştir. Buna karşılık, İngiltere Ulusal Sağlık Bakanlığı, hastanelerin 2019 yazına kadar ihtiyacı olan her hastaya ücretsiz hijyen ürünleri sağlamasının gerekeceğini vurgulamıştır (13,29).

### 3. Sağlık Tesislerinde Hijyen

Macar kadın doğum uzmanı Ignaz Semmelweis 1847 yılında, Viyana Hastanesi'ndeki anne ölümlerinin büyük bir bölümünü, hastane doktorlarının basit bir hijyen kuralına uyararak azaltabileceğini keşfetmiştir. Hastanede, hekim olmaksızın ebelerin yürüttüğü

doğumlarda anne ölüm oranları düşükken; hekimlerin muayene ettiği annelerde anne ölüm oranları yüksektir. Bunun sebebi ise Semmelweis'in da düşündüğü üzere, hekimlerin otopsi yaptıktan hemen sonra hijyen kurallarına uygun bir şekilde temizlenmeden hastaları muayene etmesidir. Mikrop teorisine tam olarak hakim olmaksızın Semmelweis, doktorların otopsiyi tamamladıktan sonra ellerini klor içerikli solüsyonlarla temizlemelerini zorunlu kılarak ölüm oranlarını önemli ölçüde azaltmayı başarmıştır. O zamandan beri, sağlık tesislerinde etkili el hijyeni, EÖK kılavuzlarının ve uygulamalarının temel taşı olmuştur ve bugün sağlık hizmetleriyle ilişkili enfeksiyonları ve antimikrobiyal direncin yayılmasını önlemek için birincil önlem olarak kabul edilmiştir (13,30).

Sağlık çalışanları, çok sayıda hastaya baktıkları ve bu süreçte kan ve diğer vücut sıvılarıyla temas edebilmeleri sebebiyle, el hijyenini geliştirme çabalarının ana hedefidir. Bununla birlikte, sağlık tesislerine gelen hasta ve hasta yakınları da patojenleri yayabilirler. Sağlık kuruluşlarının, sağlık tesisine başvuranların kullandığı tuvaletlerde ve diğer ihtiyaçlarını karşılayabilecekleri yerlerde sabun ve su barındıran el yıkama tesisleri sağlaması önemlidir (13).

DSÖ'nün sağlık tesislerinde el hijyeni için beş "kilit an" [1] bir hastaya dokunmadan önce, [2] temiz/aseptik işlemlerden önce, [3] vücut sıvısına maruz kalma/maruz kalma riski ardından, [4] bir hastaya dokunduktan sonra ve [5] hastanın çevresine dokunduktan sonra olarak sıralanmaktadır. Sağlık çalışanlarının, bakıcıların ve hastaların bu beş önemli durumda ellerini hijyen kurallarına uyarak temizleyebilmeleri için yeterli sayıda ve işlevsel el hijyeni tesisleri olmalıdır. Ayrıca DSÖ, el hijyenini geliştirmek için değerlendirme ve geri bildirim uygulamaları, işyeri anımsatıcıları ve kurumsal güvenlik ortamı geliştirmeye odaklanan bir yaklaşımın kullanılmasını önermektedir (13,31).

El hijyeni, kurulu el hijyeni tesislerine erişim

olmadan gerçekleştirilemez ve ulusal ve küresel izleme programları için temel hizmet göstergesi, hastaların bakım gördüğü yerlerde sabun ve su veya alkol bazlı el dezenfektanın varlığıdır. Temel hizmet düzeyi ayrıca tuvaletlerde sabun ve su bulundurmaya içerir. Bir sağlık kuruluşunun bakım noktalarında veya tuvaletlerde işlevsel el hijyeni tesisleri varsa, ancak her ikisinde birden yoksa, tesis "sınırlı hizmet var" olarak sınıflandırılırken, hiçbir işlevsel el hijyeni olanlığı olmayan tesislerin hizmet vermediği kabul edilmektedir (13).

### 3.1. Temel Hijyen Hizmetleri

DSÖ verilerine göre küresel olarak 2016 yılında, her altı sağlık tesisinden biri (%16) temel hijyen hizmetinden yoksundur. Bu el hijyeni tesislerinin bakım verilen yerlerde veya tuvaletlerde bulunmadığı anlamına gelmektedir. DSÖ raporunda; temel hijyen hizmetlerine yönelik öngörüler, 14 ülke için toplamda 1,7 milyar insanı kapsamaktadır. Bu, küresel nüfusun yalnızca %19'unu temsil etmektedir ve küresel bir kestirimde bulunmak için yeterli değildir. El hijyeni ile ilgili herhangi bir verisi olan 59 ülkeden yalnızca 16'sının tuvaletlerde sabun ve su varlığı hakkında bilgisi bulunmaktadır. Sabun ve suyla ilgili veri toplamak alkol bazlı solüsyon kullanımıyla ilgili veri toplamaktan daha yaygın olsa da birçok ülke (toplam 2,9 milyar nüfusa veya küresel nüfusun %35'ini oluşturan 55 ülke) bakım noktalarında el hijyeni tesislerinin varlığı hakkında bilgi toplamaktadır. Küresel olarak, sağlık bakım tesislerinin %57'sinin bakım noktalarında el hijyeni tesisleri bulunmaktadır (13).

### 3.2. Sağlık Tesislerinde Hijyenin İzlenmesi İçin Ek Göstergeler

Hükümetlerin, sağlık tesislerinde hijyen standartlarını belirleme ve gerektiğinde hizmetleri iyileştirmek için programlar oluşturma görevi vardır. Temel hijyen hizmetleri için küresel gösterge, yararlı bir başlangıç noktası olarak hizmet eder, ancak el hijyeni tekniği ve uyumu, tüm bakım noktalarında el yıkama istasyonlarının erişilebilirliği

veya sağlık hizmetlerinin varlığı ve durumu gibi hijyenin diğer önemli yönlerini kapsamaz. Pek çok sağlık kuruluşunda, temel hizmet seviyesi zaten karşılanmıştır, ancak hijyen hizmetlerinin hala iyileştirilmesi gerekmektedir (13).

**3.2.1. Hastane Çevresinde Gerekli El Hijyeni Malzemelerinin Mevcudiyeti;** Temel hijyen hizmeti düzeyi, bakım noktalarında sabun ve su veya alkol bazlı el dezenfektanı varlığını içerir. Genel olarak ayakta hasta muayene alanından elde edilen veriler kullanılır, ancak verilerin kullanılabilirliği muayene odası türüne göre değişebilir. DSÖ raporuna göre Malavi’de el hijyeni tesisleri (akan su ve sabun veya alkol bazlı el dezenfektanı) doğum odalarının %75’inde ve ayakta tedavi bölümlerinin %65’inde mevcuttur, ancak çocuk aşılama alanlarının yalnızca %36’sında bu hizmet vardır. Sağlık tesislerinin üçte birinden daha az bir kısmında (%31) tüm bakım noktalarında el hijyeni malzemeleri mevcuttur (13).

**3.2.2. El Hijyeni Uygulamaları;** El hijyeni malzemelerinin varlığı tek başına hijyen kurallarına uygun bir temizliği garanti etmez. Örneğin 2014 yılında, Bangladeş’teki sağlık tesislerinde yaklaşık 5.000 el hijyeni uygulamasının beş saatlik yapılandırılmış bir gözlemini içeren bir çalışma, hastanelerin %69’unun bakım verilen noktalarda el hijyeni tesisleri olduğunu ve sağlık çalışanlarının yalnızca %17’sinin hastalara temas ettikten sonra ellerini sabunla yıkadığını ve sadece %2’sinin hastaya temas etmeden veya aseptik görevlerden önce ellerini sabunla yıkadığını belirlemiştir. Benzer şekilde DSÖ raporuna göre 2010 yılında Kamboçya’daki sağlık tesislerinin yarısının içinde el yıkama tesisleri varken, sağlık çalışanları 30 muayenenin birinden daha azında ellerini sabunla yıkamıştır (13).

Sağlık tesislerine ait tuvaletlerdeki el yıkama olanakları hakkında bilgi eksikliği nedeniyle, 2019’da sadece 21 ülke ve bir SDG bölgesi için temel el hijyeni hizmetleri hakkında veriler yeterlidir. Verileri uygun olan 71 ülkeden 12’sinde, sağlık tesislerinin yarısından azı bakım noktalarında el hijyeni tesislerine sahiptir.

Avrupa ve Kuzey Amerika hariç tüm SDG bölgelerinde, en az bir ülkenin sağlık tesislerinin yarısından fazlasında bakım noktalarında el hijyeninden yoksundur (3).

**3.2.3. El Yıkama İstasyonlarının Ulaşılabilirliği;** Sadece sağlık çalışanlarının değil, hastaların ve ziyaretçilerin de sağlık tesislerinde ellerini yıkayabilmesi gerekir. Hastalar ve ziyaretçiler, küçük çocukları ve sınırlı hareket veya görme yetisi olan kişileri içerebilir. Birkaç ülke sağlık tesislerindeki el yıkama istasyonlarının erişilebilirliğini izlerken, Lübnan’da yapılan bir araştırma, tesislerin yaklaşık %40’ının en küçük çocukların bile kullanabileceği el yıkama istasyonlarına sahip olduğunu ve %20’sinden daha azının görme ya da hareket yetisinde kayıp olanların kullanabileceği tesislerin olduğu görülmektedir (14).

**3.2.4. Banyo Alanları;** Vücut temizliği, hastalarda enfeksiyon riskini azaltabilir ve onların refah duygusunu geliştirebilir. Hastalar, mahremiyetlerine saygı duyan işlevsel, temiz ve erişilebilir tesislerde yıkanabilmelidir. Bununla birlikte, banyo tesislerinin bulunduğu yerlerde bile her zaman hastalar ihtiyaçlarını karşılayamamaktadırlar. Birleşik Krallık’ta 2004 yılında yapılan bir ulusal değerlendirmede, banyo alanlarında duşların %10’unun çalışmadığını ve yataklı servisteki odaların %28’inin tekerlekli sandalye kullanan kişiler için uygun duşu olmadığını ortaya koymuştur (32).

## SONUÇ

Küresel çapta sağlık tesislerinde ve genel olarak insanların tüm hayatında temiz su, sanitasyon ve hijyen uygulamalarında bildirilen ilerlemeye rağmen kritik eksiklikler devam etmektedir. Dünya Sağlık Asamblesi kararına yanıt veren ülkelerin yalnızca üçte biri, eyleme geçmek için stratejik yol haritaları geliştirmiş ve %10’dan biraz fazlası WASH göstergelerini düzenli ulusal sağlık sistemleri tarafından izlemeye entegre etmiştir (3).

Sağlık kurumlarında su, sanitasyon ve hijyen sorunlarına yönelik Türkiye verileri çok sınırlıdır ve ulusal veriler bulunmamaktadır. Her ülke gibi Türkiye’de de ulusal ölçekte araştırmalar yapılmalı ve bu konudaki sorunlar tespit edilmelidir. WASH yatırımlarına önem verilmeli ve her ülkenin sağlık bütçesinde WASH yatırımları için gerekli pay ayrılmalıdır. Ayrıca, sağlık tesislerinde WASH ve enerji hizmetlerine yatırım yapmak, COVID-19 pandemisinin doğaya zarar vermeden ve tam anlamıyla kontrol altına alabilmek için gerekli temel reçetelerden biridir. DSÖ ve UNICEF başta sağlık politikalarında söz sahibi olanlar ve toplum liderleri olmak üzere tüm ülkelere ve taraflara dört öneri sunmaktadır: uygun finansman ile ulusal stratejik yol haritaları

oluşturulmalı ve bunlar uygulanmalıdır; WASH hizmetlerinin ve uygulamalarının geliştirilmesindeki ilerleme izlenmeli ve süreç düzenli olarak gözden geçirilmelidir; WASH hizmetlerini sürdürmek ve iyi hijyen uygulamalarını özendirme için sağlık işgücünün kapasitesi geliştirilmelidir; WASH, kaliteli hizmetler sunmak için COVID-19 müdahale planları dahil olmak üzere düzenli sağlık sektörü planlama, bütçeleme ve programlamasına entegre edilmelidir. DSÖ ve UNICEF, JMP kapsamında bu çabaları destekleme konusunda kararlılığını sürdürmektedir ve tüm ülkeleri, tarafları ve bireyleri temiz su, sanitasyon ve hijyen konusunda harekete geçmeye davet etmektedir. Dünya artık temel hakları görmezden gelmeyi göze almayacağı düşünülmektedir (3,13).

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. Ensure Availability and Sustainable Management of Water and Sanitation for All. <https://sdgs.un.org/goals/goal6>, (Erişim Tarihi: 26.03.2021).
2. Obstacles to WASH. <https://www.odi.org/publications/10759-obstacles-wash>, (Erişim Tarihi: 26.03.2021).
3. Global Progress Report on Water, Sanitation and Hygiene in Health Care Facilities: Fundamentals First. Geneva: World Health Organization. 2020.
4. GEMI Starts Global Baseline Roll-out. <http://www.unwater.org/gemi/en/>, (Erişim Tarihi: 28.03.2021).
5. 2015 Annual Report WHO/UNICEF Joint Monitoring Programme for Water Supply and Sanitation. <https://washdata.org/report/jmp-2015-annual-report>, (Erişim Tarihi: 20.04.2022).
6. Lack of Sanitation for 2.4 Billion People is Undermining Health Improvements. <https://apps.who.int/mediacentre/news/releases/2015/jmp-report/en/index.html>, (Erişim Tarihi: 20.04.2022).

7. Progress on Drinking Water, Sanitation and Hygiene. <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1087296/retrieve> (Erişim Tarihi: 20.04.2022).
8. Progress on Household Drinking Water, Sanitation and Hygiene. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329370/9789241516235eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (Erişim Tarihi: 20.04.2022).
9. Huisman L, Wood WE. Slow sand Filtration. Geneva: World Health Organization. 1974. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/38974> (Erişim Tarihi: 20.04.2022).
10. Adams J, Bartram J, Chartier Y. Essential Environmental Health Standards in Health Care. 2008. Geneva: World Health Organization. 2008.
11. Arısoy M, Ateş S, Piyal B, Dalgıç N, Yıldız A. Keçiören ilçesi şebeke suyunun koliform bakteri yönünden analizi. Turk Hij Den Biyol Derg, 1999; 56(3): 115-9.
12. Ateş S, Piyal B, Arısoy M. Keçiören ilçesi şebeke suyunun kimyasal değerlendirilmesi. Sağ Top Derg, 2000; 10(1): 3-6.
13. World Health Organization and the United Nations Children's Fund, WASH in Health Care Facilities: Global Baseline Report 2019. Geneva: WHO and UNICEF. 2019.
14. Ofori-Kuma MM, Gebreyesus T. WASH in Health Care Facilities. UNICEF Scoping Study in Eastern and Southern Africa. <https://www.unicef.org/esa/media/4826/file/UNICEF-WASH-in-Health-Care-Facilities-2019.pdf>, (Erişim Tarihi: 27.03.2021).
15. Guidelines for Drinking-Water Quality: Fourth edition incorporating the first addendum. Geneva: World Health Organization. 2017.
16. Guidelines for *Legionella* Control in the Operation and Maintenance of Water Distribution Systems in Health and Aged Care Facilities. Australian Government, Canberra, enHealth. 2015.
17. SuSanA. Towards more Sustainable Sanitation Solutions. [www.susana.org](http://www.susana.org) (Erişim Tarihi: 19.03.2021).
18. Diarrhoeal Disease. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>, (Erişim Tarihi: 20.03.2021).
19. Water, Sanitation & Hygiene. <https://www.gatesfoundation.org/our-work/programs/global-growth-and-opportunity/water-sanitation-and-hygiene> (Erişim Tarihi: 20.03.2021).
20. Introducing the Sanitation Economy. [http://www.toiletboard.org/media/30-Sanitation\\_Economy\\_Final.pdf](http://www.toiletboard.org/media/30-Sanitation_Economy_Final.pdf) (Erişim Tarihi: 20.03.2021).
21. Sanitation JMP WHO/UNICEF. <https://washdata.org/monitoring/sanitation> (Erişim Tarihi:20.03.2021).
22. Water, Sanitation and Hygiene (WASH) <https://www.who.int/health-topics/water-sanitation-and-hygiene-wash> (Erişim Tarihi:20.03.2021).
23. UN Department of Economic and Social Affairs-Sustainable Development Water and Sanitation. <https://sdgs.un.org/topics/water-and-sanitation>, (Erişim Tarihi: 21.03.2021).
24. Improved Sanitation Facilities and Drinking-Water Sources. [http://www.who.int/gho/mdg/environmental\\_sustainability/sanitation\\_text/en/](http://www.who.int/gho/mdg/environmental_sustainability/sanitation_text/en/), (Erişim Tarihi: 21.03.2021).
25. International Decade for Action 'Water for Life' 2005-2015. <https://www.un.org/waterforlifedecade/sanitation.shtml>, (Erişim Tarihi: 21.03.2021).
26. Guidelines on Sanitation and Health. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274939/9789241514705-eng.pdf>, (Erişim Tarihi: 21.03.2021).

27. An Assessment of Water, Sanitation and Hygiene Access in Bangladesh's Community Health Clinics. Policy Research Working Paper No. 8924. <http://www.worldbank.org/prwp> (Erişim Tarihi: 21.03.2021).
28. Safe Management of Wastes from Health-Care Activities. [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/85349/9789241548564\\_eng.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/85349/9789241548564_eng.pdf?sequence=1) (Erişim Tarihi: 21.03.2021).
29. Sanitary Product Provision for Inpatients. <https://www.bma.org.uk/what-we-do/population-health/womens-health/sanitary-product-provision-for-inpatients> (Erişim Tarihi: 21.03.2021).
30. Wyklicky H, Skopec M. Ignaz Philipp Semmelweis, the prophet of bacteriology. *Infect Control*, 1983; 4(5): 367-70.
31. A Guide to the Implementation of the WHO Multimodal Hand Hygiene Improvement Strategy. [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/70030/WHO\\_IER\\_PSP\\_2009.02\\_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/70030/WHO_IER_PSP_2009.02_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y) (Erişim Tarihi 24.03.2021).
32. Monro A, Mulley GP. Hospital bathrooms and showers: a continuing saga of inadequacy. *J R Soc Med*, 2004; 97(5): 235-7.



## Türkiye’de çiçek aşısı üretimi, 1840-1980

### The production of the smallpox vaccine in Türkiye, 1840-1980

Nuran YILDIRIM<sup>1</sup> (ID)

#### ÖZET

Geniş Osmanlı coğrafyasında sık sık ortaya çıkan çiçek epidemileriyle baş etmek amacıyla Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane’de (günümüzde İstanbul Tıp Fakültesi) Aşı İdaresi kurulmuş ve çiçek aşısı üretilmeye başlanmıştır (1840). Aşı mayası/çiçek suşu Paris’ten ithal edilir, insan pasajlarıyla çoğaltılır, Payitaht İstanbul’da halka ve ordu birliklerine ücretsiz olarak yapılırdı. Ayrıca cam tüplere veya aşı kalemlerine doldurulup bütün vilayetlere gönderilir, yine ücretsiz olarak uygulanırdı. 19. yüzyıl sonlarına doğru Fransa’da açılan çiçek aşısı istasyonlarında çiçek aşısı üretimi başlamış, Osmanlı Devleti de çiçek suşu ithalinden vazgeçip, İstanbul’da kurduğu Telkikhane-i Şahane’de çiçek aşısı üretimine geçmiştir (1892). Ancak Rumeli’ye, Anadolu’nun uzak vilayetlerine ve özellikle Arap yarımadasındaki vilayetlere postayla gönderilen aşı tüpleri hem teslimdeki gecikmeler hem de sıcak hava nedeniyle bozulup etkisini kaybetmekteydi. Bu sorunu çözmek amacıyla 1900’lerin başında uzak vilayetlerde telkikhane şubeleri açılması kararlaştırılmışsa da maddi olanaklar elvermediğinden planlanan şubeler faaliyete geçirilememiş, açılan birkaç şube de verimsizlik nedeniyle kapatılmıştır. Resmî aşı kurumu Telkikhane-i Şahane, devlet yönetiminde değişimlerin

#### ABSTRACT

In order to cope with counter the smallpox epidemics that frequently occurred the vast Ottoman geography, the Vaccine Administration was established in 1840 in the Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane (currently Istanbul Faculty of Medicine), and smallpox vaccine production took start (1840). The vaccine strains were imported from Paris, propagated through human passages and provided free of charge to the public and army in the Payitaht (royal capital) Istanbul. The material was contained in glass tubes or vaccination pens and sent to all provinces free of charge Towards the end of the 19th century, smallpox vaccine production took start in smallpox vaccine stations in France, and the Ottoman government switched from importing smallpox strains to smallpox vaccine production in the official Imperial Vaccination Center (1892). However, vaccine tubes and vaccines were sent to the Balkans, remote provinces in Anatolia and especially to the Arab Peninsula through postal service. Delivery by the means of transport of that period took a lot of time, and the vaccines spoiled on the way and would not hold. In order to solve this problem, it was decided to open filigree branches in remote provinces at the beginning of the 1900s, but the planned branches could not be activated due to lack of financial means, and a few opened branches

<sup>1</sup>Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıp Tarihi ve Etik AD., İstanbul



İletişim / Corresponding Author : Nuran YILDIRIM  
Adnan Menderes Bulvarı Vatan Cad. Fatih, İstanbul - Türkiye  
E-posta / E-mail : nurany@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 04.05.2021  
Kabul Tarihi / Accepted : 18.05.2023

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.60420

Yıldırım N. Türkiye’de çiçek aşısı üretimi, 1840-1980  
Turk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(3): 387 - 406

yaşandığı II. Meşrutiyet ve Cumhuriyet dönemlerinde farklı isimlerle aşı üretmiştir. Cumhuriyet döneminde Dr. Şerafettin Mustafa'nın müdürlüğü sırasında İstanbul Çiçek Aşısı Müessesesi adıyla faaliyet göstermekteyken kapatılmış ve Çiçek Aşısı Şubesi adıyla Ankara'daki Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü'ne bağlanmıştır. Müdürü, personeli, araç-gereci, iki buçuk milyon doz çiçek aşısı ile Ankara'ya taşınmıştır (1934). Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü Çiçek Aşısı Şubesi, İstanbul'da 1840'lerden sonra edinilmiş tecrübelerle üretime devam etmiştir. Bu makalede Türkiye'de aşı üreten kurumların tamamı ele alınmış, arşiv belgeleri, dönem kaynakları ve literatür ışığında üretim yöntemleri ve gelişimi, aşılardan saklanma ve dağıtım koşulları anlatılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Türkiye'de çiçek aşısı üretimi, Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane, Telkikhane-i Şahane, İstanbul Çiçek Aşısı Müessesesi, Merkez Hıfzıssıhha Müessesesi (Ankara)

were closed due to inefficiency. The official Ottoman Institute of Vaccination (Telkikhane-i Şahane) produced vaccines during the Second Constitutional period and during the era of Republic under different names. After the foundation of the Republic, while operating under the name of Istanbul Vaccination Institute under the directorate of Dr. Şerafettin Mustafa, it was closed and merged with the Central Hygiene Institute in Ankara. Alongside its director and staff, equipment and two and a half million doses of smallpox vaccine were moved to Ankara (1934). The Central Hygiene Institute's Smallpox Vaccine Branch was found on the experiences in vaccine production acquired in Istanbul after the 1840s. This article is the first to discuss historical accounts on the vaccine production institutions in Turkey as a whole. Production methods, storage of vaccines and supply of vaccine tubes were also evaluated all together for the first time.

**Key Words:** Smallpox vaccine production in Türkiye, The Imperial School of Medicine (Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane), Imperial Vaccination Center, Istanbul Vaccination Institute, Central Hygiene Institute (Ankara)

## GİRİŞ

Dünya'nın en eski ve en çok ölümlere yol açan hastalıklarından biri olan çiçek (smallpox), Amerika Birleşik Devletleri'ni kasıp kavururken, Başkan Thomas Jefferson (1743-1826), «Gelecek nesiller iğrenç çiçeğin varlığını yalnızca tarihten okuyacak» görüşünü dile getirmişti (1806). Edward Jenner'in (1749-1823), çiçek aşısını keşfinden birkaç yıl sonra edilen bu söz 174 sene sonra gerçekleşecek, son çiçek vakasının 1977'de Somali'de görülmesinin ardından, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 8 Mayıs 1980'de, aşı sayesinde çiçek hastalığının tarihe mâl olduğunu açıklayacaktı (1).

Aslında Jenner'den önce, İngiliz çiftçi Benjamin Jesty (1737-1816), 1774'te çıkan çiçek salgınında çiftliğinde çalışmakta olan iki süt sağıcısı kadının, çiçeğe yakalanmış olan erkek kardeşleri ile yeğenlerine baktıkları halde hastalanmadıklarını gözlemlemişti. Komşusu Mr. Elfort of Chittenhall'ın birkaç ineğinde çiçek hastalığı olduğunu biliyordu. Onun çiftliğine giderek, bu ineklerin püstüllerinden aldığı lenfi, eşinin örme iğnesiyle iki oğlunu ve eşini kollarına yaptığı çiziklere sürerek aşılarmıştı. Jesty, aşılama yöntemini sistematik olarak test etmediği ve yayın yapmadığı için buluşu unutulmuştu (2). Esasen, İngiltere'de sütçülükle uğraşanlar ve kasaba hekimleri, süt

sağıcısı kızların sığır çiçeği hastalığına yakalandıktan sonra çiçek hastalığından korunduğunu biliyorlardı. Edward Jenner'in farkı inek çiçeğinin koruma mekanizması olarak insanlara bulaştırılabileceğini düşünmüş olmasıydı. Bu düşünceyle süt sağıcısı Sarah Nelmes'in elindeki çiçek püstüllerinden aldığı lenfi, 14 Mayıs 1796 günü 8 yaşındaki James Phipps'e aşıladı. Dokuzuncu gün ateşlenen çocuk daha sonra iyileşti. Bunun üzerine yaptığı aşının koruyuculuğunu test etmek amacıyla doğrudan inek püstüllerinden aldığı lenf ile bir çocuğu ve onun püstülünden aldığı lenfle başka çocukları aşıladı. Hepsisi hafif bir rahatsızlığın ardından çiçek hastalığına karşı bağışıklık kazanmıştı. Aşılama yöntemini, "An Inquiry into the Causes and Effects of the Variolae Vaccinae, a Disease Discovered in Some of the Western Countries of England, Particulary Gloucestershire, and Known by the Name of the Cow Pox" (London 1798) adıyla yayınladığı kitabında tanımladı. 23 olgunun öyküsünü içeren kitabı; inek çiçeğinin çiçek hastalığına karşı koruyucu etkisi olduğuna ilişkin epidemiyolojik ve deneysel bilgiler içermektedir. Jenner'in yöntemi inek çiçeği lenfi (vaccinia virüs) ile insanı aşılamak, aşılandığı kişinin püstüllerinden aldığı lenf ile başka insanları aşılamaktır. Kısa sürede pek çok dile çevrilen kitabı ve başarılı aşılamalar sayesinde, karşı çıkanlar olsa da Jenner usulü aşısı (vaccination/vaksinasyon) İngiltere'ye ve Avrupa'ya yayıldı. Böylece Francis Galton'un (1822-1911) ünlü sözü; "Bilimde kredi, fikri ileri süren ilk adama değil, dünyayı bu fikre ikna eden adama gider" gerçekleşmiş ve Jenner, çiçek aşılaması yapan ilk kişi olmadığı halde, aşılamaya bilimsel statü kazandırdığı için çiçek aşısının mucidi olarak tıp tarihine geçmiştir (3).

O sıralarda Hekimbaşı olan Mustafa Behçet Efendi (1774-1834), Guiseppe Marshall'ın, Jenner'in çiçek aşısını anlatan, *Observazioni sopra il vajuolo vaccino* (Palermo, 1801) kitabını, "Risale-i Telkih-i Bakari" (İnek Çiçeği Aşısı Risalesi) adıyla Türkçeye çevirmişti. Mustafa Behçet Efendi önsözde; mektuplar, raporlar, gazeteler ve tıp dergilerinde çiçek aşısının nasıl yapıldığının anlatıldığını ve bu yollarla her yere

yayıldığını, İstanbul'da da zaman zaman tecrübeli uzmanlar tarafından yapılmış olduğunu ifade etmiştir (4). Bundan sonra Osmanlı tıp çevrelerinde ve resmi yazışmalarda çiçek aşısı, "vaçine ameliyatı, vaçine aşısı, Jenner usulü aşısı, telkih-i bakari, telkih-i cüderi, telkih-i cüderi-i bakari," (inek aşısı, vaccinia virüs aşısı) ifadeleriyle anılmıştır (5).

Dönemin seçkin hekimi Şânizâde Ataullah Efendi (1771-1826), Anton von Stoerck'ün (1731-1803) "Medizinische Pracktischer Unterricht für die Feld und Landwundaerzte der Österreichischen" (Avusturyalı Memleketleri Askeri Hekimleri ve Köy Cerrahları İçin Pratik Tıp) kitabını İtalyancadan, "Miyârü'l-Etibba" adıyla Türkçeye çevirip 1820'de yayınlamıştır (6). Kitabın aslında bulunan çiçek aşısı bahsindeki variolasyon (variola virüs ile aşılama) bölümünü çıkarmış ve "Telkih-i cüderi-i bakari beyanındadır" başlığı altında Jenner'in inek çiçeği aşısını anlatmıştır. Bu bölümde 1800 senesinde İngiliz sefirinin İstanbul'daki evinde aşısı tecrübeleri yapıldığını duyduğunu belirtmiştir (s. 103). "Tezyil-i mütercim" (Çevirenin eki) başlığı altında yaptığı açıklamada; ineklerinde çiçek hastalığı bulunmayan yerlerin aşısı maddesini başka ülkelerden getirttiğini, İstanbul'a önce Yeni Dünya (Amerika Birleşik Devletleri) ile İngiltere ve diğer yerlerden muhafaza içinde aşısı maddesi getirildiğini ayrıca, İstanbul Kâğıthane civarındaki Ayazağa köyü ineklerinde bulunan çiçek püstüllerinden alınan madde ile binlerce kişinin aşılandığını dile getirmiştir (s.110). Buradan Edward Jenner'in aşılama yöntemi hakkındaki kitabı yayımlandıktan hemen sonra İstanbul'da hem ithal suşla hem de yerli ineklerden alınan suş ile binlerce kişinin aşılanmış olduğu anlaşılmaktadır.

İstanbul'daki bu ilk aşılamalardan sonra Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane'de kurulan Aşısı İdaresi'nde çiçek aşısı üretimi başlamış ve sistemli aşılamalar sayesinde Osmanlı coğrafyasının her yerinde baş gösteren çiçek epidemileri kontrol altına alınmış, Cumhuriyet döneminde devam eden aşılama programları sayesinde 1957 yılında çiçek hastalığı eradike edilmiştir.

Bu çalışmada, çiçek aşısının 1796'da İngiltere'de uygulamaya girişinin 227. yılında; Türkiye'de 1840-1980 zaman diliminde, çiçek aşısı üreten kurumlar üzerinden, üretim yöntemlerindeki gelişmeler ele alınacaktır. Kaynak olarak Cumhurbaşkanlığı Devlet Arşivleri Başkanlığı Osmanlı Arşivi'nde (BOA) yapılan taramalarda çiçek aşısı üretimi ve üretici kurumlar hakkındaki belgeler ile orijinal basılı dönem kaynakları ve literatürden seçilmiş kaynaklar kullanılmıştır. Arşiv belgeleri günümüz Türkçesiyle değerlendirilmiş, arşiv kodları cümle sonlarında parantez içinde verilmiştir. Arşiv belgelerindeki Hicri ve Rumi takvimlere ait tarihlerin Miladi takvime çevriminde, Türk Tarih Kurumu Tarih Çevirme Kılavuzu esas alınmıştır.

## ÇİÇEK AŞISI ÜRETEK KURUMLAR VE ÜRETİM YÖNTEMLERİ

### Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane Aşı İdaresi

1839'da faaliyete geçen Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane (günümüzde İstanbul Tıp Fakültesi) hem hekim yetiştirmekte hem de kendisine bağlı olarak 1840 yılında kurulmuş olan Meclis-i Tıbbiye vasıtasıyla sivil sağlık hizmetlerini yürütmekteydi (7). Bu nedenle 19 Haziran 1840 (18 R. 1256) tarihli iradeyle, "telkih-i cüderi, vaçine (vaccine'nin İtalyancası) ameliyatı" yani Jenner usulü çiçek aşısı (vaccination) yapmak ve aşılama faaliyetlerini yönetmekle görevlendirildi. Günümüzde Galatasaray Lisesi'nin bulunduğu yerdeki okul binasının bahçesinde bir "vaçine aşısı mahalli" (vaksinasyon aşısı yeri/çiçek aşısı servisi) hazırlandı. Burada faaliyete geçen, Aşı İdaresi'nde ithal edilen aşısı mayası (suş) ile aşılama yapılmaya başladı. Aşılananlar 7-9 gün sonra çağrılıp kontrol edilir, uygun görülenlerin püstüllerinden alınan aşısı mayası küçük yağ şişelerine veya aşısı kalemlerine doldurulmak suretiyle yeni aşısı hazırlanırdı. Fildişi aşısı kalemlerinin uzun sivri uçlu ve burgulu bir kapağı vardı. Aşısı yapılacağı zaman burgulu kapak açılır, kapağın sivri ucu ile aşısı yeri delinir, kalem ucuna bulaşmış olan aşısı mayası açılan deliğe sürülürdü. İthal inek çiçeği suşu insan pasajlarıyla virülansını kaybedince yenisi ithal edilirdi (8). Aşısı kalemleri ücretsiz olarak talep edilen

vilayetlere gönderilirdi.

Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane Aşıcıbaşı Mustafa Efendi'nin bildirdiğine göre; aşısı mayası (suş) bozulmadan saklanmak için küçük yağ şişelerine konur, şişenin ağzı sıkıca kapatılır, şişenin tamamı balmumu ile kaplanır ve siyaha boyandıktan sonra serin ve karanlık bir yerde saklanırdı. Aşısı mayası iplikte korunmak istenirse, aşısı mayasına bulanmış bir parça iplik ufak bir yağ şişesine konur, balmumu ile kaplanan şişe içinde bir damla cıva bulunan kaptaki ve serin bir yerde muhafaza edilirdi. Aşılama yapılacağı zaman yağ şişesinin ağzındaki balmumu neşter ucuyla delinir, içine sokulan neşter bir süre bekletilir ucuna bulaşmış aşısı mayası, sağ kolun üstünde neşterle yapılan bir iki çizime sürülürdü. Aşısı iplikteyse o zaman yağ şişesinden çıkarılan iplik kolda neşterle yapılacak çiziklerin uzunluğunda kesilir ve bu çizikler üzerine konup bir bez parçasıyla bağlanırdı. Aşısı mayasının bir kâğıda sarılıp ya da bir masuraya konup balmumuyla kaplanıp saklanması veya kurutulup iki cam arasına konduktan sonra etrafının balmumu ile kapatılarak saklanması da mümkündür. Kuru aşısı kullanılacağı zaman su ile nemlendirilirdi (9).

Başvuran herkesin ücretsiz olarak aşılandığı Aşısı İdaresi vilayetlerle irtibat halindeydi. Karantina hekimleri ile sivil ve askeri hekimlerin istedikleri aşıları hazırlayıp yollardı. Aşısı İdaresi Hekimbaşı ve Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane Nazırı (Dekan) İsmail Paşa (1807-1880) tarafından yönetilirdi. Çiçek aşısı üretimi ve vilayetlere dağıtımıyla yakından ilgilenen Hekimbaşı İsmail Paşa, Beşiktaş'ta bir inek üzerinde yaptığı deneme sonunda bir aşısı üretmişti. Önce şiddetli iltihap yapan daha sonra şiddeti azalan bu aşısı, veba ve karantina bölgelerini incelemek için gelen Rus heyeti başkanı Dr. Raffilovitch ve İtalyan Dr. Antonio Pezzoni'nin katılımı ile Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane'de yapılan deneylerde kullanılmış ve çiçek etkeninin ısıtıldığı zaman harap olduğu saptanmıştı (1846). Fakat bu aşısının üretilip kullanıldığına dair bir kayıt bulunmamaktadır.

Aşısı İdaresi 1846 yılında; Rumeli için 8.000, İstanbul'daki askeri birlikler için 5.000, İznik vilayeti

için 15.000, karantinahaneler için 5.000, Manisa için 1.000, Vidin için 7.300 ve toplam olarak 48.800 doz aşı hazırlamıştı. Ertesi sene Bağdat'ta iki, Basra'da iki, Manisa'da bir, Bolu'da iki, Adana'da iki, Afyon'da iki ve Konya'da iki, "Aşı İdaresi Şubesi" kurulmuştur. Bu şubelerde çalışanların, ordu hekimlerinin, karantina hekimlerinin raporlarına göre, Osmanlı Devleti'nin çeşitli vilayetlerinde aşılana çocuk sayısı 80.000'di. Payitahtta yapılanlarla birlikte toplam sayı 100.000'e ulaşmıştı. 1848'de sadece İçel Sancağı'nda 9.500 çocuğa aşı yapılmıştı. Babıâli, aşılama uygulamalarının daha iyi yapılabilmesi için, İstanbul'un en ücra mahalleleri ile bütün köylerindeki imamlara; bölgelerinde yapılacak aşılamaları kaydetmelerini ve aşı kayıtlarını üç ayda bir Hekimbaşı İsmail Paşaya göndermelerini emretmişti. 1849-1851 yıllarında İstanbul'da halktan 2.008, askeri birliklerde ise 5.000'i aşkın kişi aşılanmıştı. Ayrıca, Aşı İdaresi'nden gönderilen aşılarla, Ankara ve civarında 33.000 kişi aşılanmıştı. Ertesi sene İstanbul'da sivil-asker 11.000'den fazla insan aşılanmıştı. Aşı İdaresi'nin sistemli olarak yürüttüğü aşılama faaliyetleri kapsamında evlerde de aşı yapılmış ve İstanbul'da aşılananların oranı artarak 12.000'i geçmişti (10). Ancak başka şehirlere gönderilen aşılar dönemin ulaşım koşulları nedeniyle etkisini kaybetmekteydi. Edirne'ye gönderilen 200 kalem çiçek aşısının etkisiz olduğunun belirtilmesinden sonra 50 kalem taze aşı ile özel olarak Fransa'dan getirilmiş aşı maddesi dolu 10 adet aşı tüpü postaya teslim edilmişti (A.MKT.MHM. 758/68, 24 S. 1275 / 8 Ekim 1858).

#### Dr. Violi'nin Çiçek Aşısı Enstitüsü

Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane çiçek aşısı üretimini sürdürürken, İstanbul'da yaşamakta olan İtalyan Dr. Giovanni Battista Violi (1849-1928), Beyoğlu Aynalı Pasaj'da, Etablissement Vaccinogène / Institute Vaccinogène adı ile özel bir aşı evi kurarak buzağıdan inek çiçeği aşısı hazırlamaya başlamıştı (1880). 1887 sonlarında İstanbul'da çıkan çiçek salgınının yayılmaması için sarf etmiş olduğu çabalar nedeniyle, Mecidi Nişanına layık görülen Dr. Violi (BOA. DH.MKT.

1489/23, 13 C 1305/26 Şubat 1888), ayrıca kendi icadı olan ve İstanbul'da Hugo Avellis tarafından imal edilen bazı aşı alet-edevatı ve müstahzaratıyla, Kristof Kolomb'un Amerika'yı keşfetmesinin 400. yılı münasebetiyle düzenlenen, Uluslararası Chicago Sergisi'ne katılmış, sergi idaresi tarafından madalya ile ödüllendirilmişti (BOA. HR.TH.187/69, 13 Ocak 1897). Aşı enstitüsünde ürettiği aşılarla Beyoğlu Belediyesi'ne bağlı semtlerdeki yoksul çocukları ücret almadan aşıladı. Bu insancıl davranışı nedeniyle, Şehremaneti'nin önerisi üzerine Osmanî Nişanı (4. derece) ile taltif edildi (1893) (7).

#### Telkikhane-i Şahane

1871'de İstanbul'da çıkan çiçek salgınının ardından, Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane Nazırı Marko Paşa (Apostolidis, 1814-1888) başkanlığında toplanan Meclis-i Umur-ı Tıbbiye-i Mülkiye, 5 Mayıs 1872 tarihli toplantısında İstanbul'da bir Aşı Enspektörlüğü (Müfettişliği) kurulmasını kararlaştırdı. Başına da Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane ilm-i hayvanat (zooji) hocası Hüseyin Remzi Bey (1839-1896) getirildi. Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane'ye bağlı olan Aşı Enspektörlüğü'nün görevi, Avrupa'dan getirilen suşlardan hazırlanan aşıların aşı kalemlerine/ tüplerine doldurulması ve uzak yerlere zamanında gönderilmesini sağlamaktır. Aşılama faaliyeti bu şekilde yürütülürken, Hüseyin Remzi Bey, kuduz aşısını öğrenmek üzere Paris'e gönderilen heyete seçildi. 1886 yılında Louis Pasteur'den (1822-1895) kuduz aşısı üretimini öğrenmek üzere Paris'e gönderilen heyet üyeleri, Paris'te kaldıkları altı ayda bakteriyoloji ve çiçek aşısı ile gelişmeleri de takip etmişti (7). Hüseyin Remzi Bey, 24 Ocak 1891 günü, Nezaret-i Mekteb-i Tıbbiye-i Askeriye ve Umur-ı Tıbbiye-i Mülkiye'ye verdiği layihada, 1298 (1880/81 ya da 1882/83) senesinden beri Aşı Enspektörü olduğunu, lüzum gördükçe Cemiyet-i Tıbbiye-i Mülkiye'nin bilgisi dahilinde aşı memurları tayin etmekte ayrıca aşı kalemi almak ve Avrupa'nın en meşhur ve muteber aşı evlerinden çiçek aşısı mayası ve kalem satın almakta olduğunu dile getirmişti. Bu

görevinin yanı sıra Fransa'da aşı meselesi hakkındaki yeni gelişmeleri incelemiş ve aşının ne kadar önem kazandığını öğrenmişti. Hatta yanında çalışacak aşıcılara rehber olmak üzere, Val-de-Grace Askeri Tıp Okulu hocalarından Louis Vaillard'ın (1850-1935): Manuel pratique de la vaccination animale: Technique, procédés de conservation du vaccin (Paris 1886) kitabını, Telkih-i Hayvani Usul-i Ameliyesi adıyla Türkçeye çevirip yayınlamıştı (İstanbul 1308). Bu çalışmalarından, Paris'teki tanınmış hekimlerin o zamana kadar uygulanmakta olan Jenner usulü, "telkih-i cüderi-i bakariden telkih-i cüderi-i beşeri hasıl etmek" (inek çiçek aşısından insan aşısı üretme) yöntemini, frenginin bulaşmasına neden olduğu için reddettiklerini ve taze inek çiçeği aşısını (cowpox) önerdiklerini biliyordu (5).

Fransa'da Kasım 1888'de resmi bir aşı evi kurulmuştu. Buraya müracaat edenler ücretsiz olarak taze inek çiçeği suyuyla aşılanmakta ve ihtiyaç duyulan yerlere aşı dağıtımını da buradan yapılmaktaydı. Hüseyin Remzi Bey bu bilgileri ilettiğinde, Meclis-i Sıhhiye-i Umumiye ve Tıbbiye-i Mülkiye kendisinden, Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane'deki Aşı İdaresi'nde inek çiçeği aşısı üretimi için neler gerektiğini bildirmesini istemiş, Hüseyin Remzi Bey de Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane'nin botanik bahçesinin bir köşesinde yaptırılmak üzere bir telkikhane planı çizip, yapım ve daimi masraflarını yazdığı bir defteri takdim etmişti. Telkikhane'nin yapımı 6.040 kuruş mal olacaktı. İstanbul Şehremini (Rıdvan İsmail Paşa), yapım masrafının ayda 1.450 kuruş itibarıyla, belediye gelirlerinden ödeneceğini ifade etmiş, Şura-yı Devlet uygun görünce, Tıbbiye Nezareti'ne iradesi çıktığı bildirilmiş, Şehremaneti'ne de gereğini yapması emredilmiştir. (DH. MKT. 1818/65, 3 Ş. 1308/14 Mart 1891; ŞD.2568/3, 18 Ş.1308/29 Mart 1891 ; DH. MKT. 1830/29, 16 N. 1308/25 Nisan 1891).

Aşı Enspektörü Hüseyin Remzi Bey'in telkikhane yapımı önerisi Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane Nezareti tarafından üst makamlara iletildi. Bu arada Aşı İdaresi'nde aşı mayası kalmamıştı. Hüseyin Remzi Bey 8 Nisan 1892 günü, bir kez daha buzağılardan

elde edilecek taze aşıların önemini ve Paris'teki uygulamaları anlatıp, telkikhane yapılıncaya kadar Tufeylat-ı Hayvaniye Ameliyathanesi'nin (Parazitoloji Laboratuvarı) küçük buzağı ahırında beslenecek buzağıları aşılamaya ve püstüllerinden alınacak aşı maddesiyle kalemler doldurmaya hazır olduklarını bildirdi. Bir buzağıdan 400-500 aşı kalemi, bir ayda aşılanacak altı buzağıdan 3.500 aşı kalemi doldurulabilirdi. Sıkışık durumlarda buzağı sayısı artırıldığında, ayda 7.000 aşı kalemi ya da aşı tüpü elde edilebilirdi. Böylece ihtiyaç duyulan yerlere taze aşı göndermek mümkün olacaktı. Bunun için gereken masraf ayda 2.000 kuruştı. Telkikhane'nin kurulması ve parazitoloji laboratuvarında çiçek aşısı üretimine başlanması Padişah iradesiyle uygun bulundu (İ.MMS.131/5628, 1 Z. 1309/28 Haziran 1892). Sultan II. Abdülhamid, kısa süre sonra, Sirkeci-Demirkapı'da bulunan Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane'deki Tufeylat-ı Hayvaniye Ameliyathanesi'nde çiçek aşısı üretimine izin verdi (BEO.28/2047, 5 Z. 1309/1 Temmuz 1892). Bunun üzerine Dahiliye Nezareti, Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane Nezareti'ne, aşı mayalarının hazırlanması için gereken masrafın, 1892 bütçesine dahil edildiğini bildirerek gereğinin yapılmasını istemiştir (DH. MKT.1975/80, 26 Z.1309/22 Temmuz 1892). Daha önce yapılan çalışmalarda bu belgeye dayanarak Telkikhane-i Şahane'nin Temmuz 1892'de açıldığı ileri sürülmüştür (11). Oysa Telkikhane-i Şahane'nin Dahiliye Nezareti yazısının geldiği gün açılıp faaliyete geçmiş olması mümkün değildir. Nevsal-i Âfiyet'te belirtildiği gibi Ağustos 1892'de açılmış olmalıdır (12).

Telkikhane-i Şahane Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane'de faaliyet göstermekte olan ve ülkenin sivil sağlık işleriyle görevli, Meclis-i Tıbbiye-i Mülkiye ve Sıhhiye-i Umumiye'ye (Administration Médicale du Conseil d'Hygiene publique) bağlı olarak faaliyete geçip aşı üretmeye başladı (7). Bulunduğu laboratuvar; bir salon, müfettiş odası, kimyahane ve aşı salonundan ibaretti. Bahçede son sistemde yapılmış üç bölmeli bir ahır vardı. Aşılanacak iki üç aylık buzağılar önce veteriner kontrolünden geçirilir sağlıklı olduğuna



karar verildikten sonra masaya yatırılıp ayakları, başı ve beli yumuşak bir kayış ile bağlandıktan sonra memelerinden koltuk altlarına kadar olan kısımdaki tüyleri makas ile kesilip ardından tıraş edilir, tıraşlı alan sabun ile yıkandı steril bezle kurutulurdu. Tıraşlı alanda yapılan paralel çiziklerin üzerlerine ithal aşı mayası konurdu. Konulan maya kuruduktan (yaklaşık 15 dakika) sonra, çiziklerin üzeri sarılır ve hayvan ahırdaki bölümüne götürülürdü. Yedinci gün hayvan tekrar ameliyat masasına yatırılır, püstüllerin üstü yıkanır, içinde birikmiş olan aşı mayası alınır. Aşı mayası alınan danalar bir ay bekletildikten sonra satılırdı. Telkikhane-i Şahane’de Cuma ve Pazar hariç, her gün müracaat edenler ücretsiz olarak aşılanır, aşısı tutanların püstüllerinden aşı mayası alınır (13).

İlk Çiçek Aşısı Nizamnamesi’nin 8 Temmuz 1885’de yürürlüğe girmesiyle aşısı tutanlara “aşı şahadetnamesi” (aşı sertifikası) verilmeye, aşı şahadetnamesi olmayanlar okullara, medreselere, devlet hizmetine, zaptiyeye ve askerliğe alınmamaya başlandı. Bu ilk nizamnamenin ihtarnamesinde, “Beşinci maddeye müteallik ihtarat” başlığı altında, aşı yapmakla görevli hekim, cerrah ve aşı memurlarına, Avrupa’dan getirilecek aşı mayası ile dolu ve boş aşı kalemlerinin İdare-i Tıbbiye-i Mülkiye’den verileceği ya da gönderileceği belirtilmişti. Boş aşı kalemleri aşılanan çocukların püstüllerinden alınacak aşı mayalarıyla doldurulacaktı. 1894 Çiçek Aşısı Nizamnamesi’nin 11. maddesi ile, doğan çocukların ilk altı ayda aşılatılması ve 20. maddesi ile aşıların her beş senede bir tekrarlanması mecburiyeti kondu. Ertesi sene yürürlüğe giren, Telkikh-i Cüderi Ameliyatına Dair Nizamnamenin Talimatı 3. maddesiyle İstanbul’daki belediye dairelerinin müdürlerine, her ay aşılananların bilgilerini içeren bir defter tutup Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane Nezareti’ne göndermeleri emredildi (1895) (9) Böylece hem aşı sarfiyatı kontrol edilmeye hem de aşılananların sayısı belli olmaya başladı.

15 Ocak 1895 tarihinde Telkikhane-i Şahane’ye satın alınacak 16 buzağı, 750 tüp, 200 petri kutusu, 24 pens, 24 İngiliz usturası, 12 küvet, 2 dolap, 50 kapaklı cam fanus 10 musluklu cam varil, 100 muhtelif boyda

fanus, iki tezgah, ustunç takımı (cerrahi çantası), mikroskop, otoklav, etüv, sterilizatör, Chamberland otoklavı (Charles Chamberland 1879’da icat etmiştir), hassas terazi, glasiye (buzluk), imbik, son sistem maya ezme aleti, maya kurutup toz haline getirmeye yarayan alet ve bazı araç-gereç ile görevlilerin maaşlarının toplam tutarı 40.000 kuruş olarak belirlenmişti. Aynı sene Telkikhane’de; bir ser müstahzır (aşı hazırlayıcı başı), üç müstahzır (aşı hazırlayıcı), beş seyyar aşıcı, iki kadın aşıcı (ebe Sadberk Hanım ve aşıcı Ayşe Sabiha Hanım), ser hademe, iki hademe, iki kâtip ve kayıt memuru çalışmaktaydı (9).

Resmi aşı evi Telkikhane-i Şahane binasının yapımı açık eksiltme usulüyle 134.000 kuruşa bir müteahhidin üzerinde kalmıştı (DH.MKT.300/26, 25 R.1312/26 Ekim 1894). Telkikhane inşaatının tamamlanmak üzere olduğu sırada mefruşatı, terkos suyu ve havagazı tesisatı için keşif yaptıran Tıbbiye Nezareti, toplam 46.975 kuruşa ihtiyaç olduğunu bildirmişti (ŞD. 637/1, 21 RA. 1313/21 Ağustos 1895). Telkikhane-i Şahane’nin 1896 (Rumi 1312) yılında taşındığı (13) yeni binası Sirkeci-Demirkapı’daki Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane’nin botanik bahçesinde tek katlı ahşap bir binaydı. Aşı salonunun zemini mermerdi, önde ve arkadaki kapıların birinden aşılanacak dana getirilir diğerinden müstahzırlar girerdi. Cerrahi aletler dolabı, sterilizasyon aletleri, dananın aşılamak üzere yatırıldığı bir masa bulunmaktaydı. Solundaki aşı hazırlama salonunun ortasında bir masa üzerinde aşı hazırlamada kullanılan, cam ve porselen havanlar, mihver borusu ile cetvel durmaktaydı. Ayrıca muşamba örtülü üç küçük masada aşı tüplerini kapatmak için iki havagazı musluğu vardı. Bu salonun yanında biri çocuklar diğeri büyükler için iki aşılama odası, onların yanında sterilizasyon odası, depo, müdüriyet ve memur odaları sıralanmıştı (14).

24 Mayıs 1896’da Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane Nazırı Ahmet Şükrü Paşa Telkikhane-i Şahane’ye talimat göndererek; hazırlanan aşı mayasının muşamba ile paketlenip üzerine buzağı numarasının yazılmasını, aşı sevk edileceği zaman paketin, ser müstahzır ve sarf memuru tarafından açılıp istenildiği



kadar gönderilmesini ve kalan aşının paketlenip mühürlenmesini, bir paket bitmeden başka bir paketin açılmamasını, buzlukta saklanan tüplerden bir aşı hazırlayıcısının sorumlu tutulmasını istedi. Telkikhane-i Şahane ihtiyacı olan buzları Karhane-i Âmire'den satın almaktaydı (9). Karhane-i Âmire başta Eyüp olmak üzere İstanbul'un bazı semtlerinde açmış olduğu 10-15 metrelik koni şeklindeki kar kuyularına kışın kar doldurur, karlar donup buz haline gelirdi. Buz kütleleri kırılarak şehre sevk edilip satılırdı (15).

Telkikhane-i Şahane'nin kuruluşunda büyük emeği olan Aşı Enspektörü Hüseyin Remzi Bey, vefat edince yerine Dr. Hasan Zühtü Nazif Bey (1891-1897) getirildi (1896). Dr. Hasan Zühtü Nazif Bey 1890 yılında bakteriyoloji eğitimi için Fransa'ya gönderilmiş, Val-de-Grâce Askeri Tıp Okulu'na ve Pasteur Enstitüsü'ndeki kurslara devam etmişti. Fakat ertesine sene 1897 Türk-Yunan Savaşı'nda Tesalya'da tifüsten vefat etti. Bu defa, onunla birlikte Val-de-Grâce Askeri Tıp Okulu'nda ve Pasteur Enstitüsü'nde bakteriyoloji eğitimi almış olan, Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane patolojik anatomi muallimi Dr. Rıfat Hüsametdin Bey (1863-1921) "müdür" unvanıyla tayin edildi (1897) ve bu görevini 1913 yılına kadar yürüttü.

Dr. Rıfat Hüsametdin Bey döneminde aşı üretmek için 6-10 aylık bir dişi dana/buzağı alınır, cins olarak Kırım buzağıları tercih edilirdi. Çünkü bunlardan elde edilen aşı mayası Rumeli ve Anadolu danalarından daha kaliteliydi. Aşılacak dana

12/48 saat müşahede altında tutulur, aşılacağı zaman özel bir masaya yatırılır, karnının sağ tarafı iyice kırılır, kaynamış su ve sabunla yıkanarak tıraş edilirdi. Birbirine paralel olarak yapılan çiziklere aşı mayası sürülürdü. Aşılana hayvanlara 4 okka süt, 4 yumurta verilirdi. Beşinci gün çizikler üzerindeki kabuklar bir saat camına konur, püstüller cımbız ile sıkıştırılır çıkan pülp küretle toplanırdı. Pülp ve kabuklar sterilize edilmiş porselen havanda ezilir kıvama gelince damla damla saf gliserin eklenirdi. Elde edilen emülsiyon ağız yoluyla tüplere çekilerek buzlukta -12 derecede saklanırdı. Yaz mevsiminde vilayetlere deniz yoluyla gönderilecek aşılardan vapur buzluklarına konması istenirdi. Kara yoluyla gönderilen aşılarda bozulmaktaydı. Aşı mayası/suşu Fransa'daki aşı evlerinden getirtilirdi. Hayvandan hayvana pasajlar yapıldığında değişik hayvanlardan alınan suşlar karıştırılır, üç hayvan pasajından sonra küçük çocuklardan geçirilen suş virülansını korurdu (17,18).

Rıfat Hüsametdin Paşa'nın göreve başlamasından kısa bir süre sonra 1898 (1316) yılında, İstanbul'da olduğu gibi bütün vilayetlerin aşı istatistikleri hazırlamaları ve üç ayda bir istatistik defterlerini Telkikhane'ye göndermeleri istenmiştir (ŞD.851/13,25 CA.1332/21 Nisan 1914). Rıfat Hüsametdin Paşa bu istatistiklere dayanarak, Telkikhane-i Şahane'nin 1318 (1900) Senesine Mahsus İstatistik Risalesi'ni yayınlamıştır (İstanbul, 1319/1901) (16) (Tablo 1).

Tablo 1. Telkikhane-i Şahane'de üretilen çiçek aşısı, 1893-1896 (16)

Sene	Satın Alınan Buzağı (Kırım---/Yerli.166)	Hasılat	Sarfıyat	Aşılana Çocuk Sayısı
1893	166 (Kırım---/Yerli.166)	48,356	48,356	135,839
1894	159 (Kırım---/Yerli.159)	54,183	54,183	201,708
1895	131 (Kırım.15/Yerli.116)	76,456	75,517	410,038
1896	72 (Kırım.50/Yerli.22)	145,125	139,677	403,662

Aşı mayası doldurmak için kullanılan cam tüpler İstanbul'da yoktu, sefaretler kanalıyla Viyana'dan ithal edilirdi. 1904 Yılında Viyana'ya sipariş edilen 400.000 boş tüp ile tenekeden yapılmış nikel yaldızlı 10.000 adet tüp muhafazası için 3.600 Frank ödenmişti (HR.TH.359/53,9 Ş.1324/19 Ekim 1904). Ertesi sene Viyana'ya 250.000 boş aşı tüpü için 69 Osmanlı altını ödenmişti (HR.TH.323/15, 24 Ağustos 1905). Sonraki yıllarda da Avrupa'dan boş aşı tüpü getirilmiştir. 1909'da 400.000 adet boş tüp için 12.000 kuruş ödenmiş, 3.000 kuruş nakliye masrafıyla birlikte boş tüplerin İstanbul'a gelişi 15.000 kuruşa mal olmuştu (ŞD. 2785/46, 3 CA.1327/23 Mayıs 1909).

Dersaadet'in 1324 ve 1325 Senelerine Mahsus Sıhhi İstatistiki (İstanbul 1326/1910), İstanbul'da belediye tarafından, 1908-1909 yıllarında yapılan çiçek aşlarına da içermektedir. Buna göre İstanbul'da; 1908 yılında, evlerde 39.718, merkez belediye dairesinde 15.501 olmak üzere toplamda 54.819 çocuk aşılanmıştır. Ertesi sene 1909'da, evlerde 72.092, merkez belediye dairesinde 35.313 olmak üzere toplam 107.405 kişi aşılanmıştır. Aşılananların toplam sayısı o sene üretilmiş olan çiçek aşısı dozlarını ifade etmektedir.

### Telkikhane-i Osmani

II. Meşrutiyet'in ilanından sonra, Telkikhane'nin adı ve bağlı olduğu makam sık sık değişti. İttihat ve Terakki Hükümeti bütün resmi kurumların adlarındaki "Şahane" sözcüğünü "Osmani" ile değiştirdi, aşı evinin adı da "Telkikhane-i Osmani" oldu. Telkikhane-i Şahane döneminde olduğu gibi Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane'deki Meclis-i Tıbbiye-i Mülkiye ve Sıhhiye-i Umumiye'ye bağlı olarak çalışmaktayken 1911'de; Kimyahane, Dâülkelp (Kuduz) Tedavihanesi ve Morg ile birlikte Dahiliye Nezaret'i'nin yönetimine geçti (7). Balkan Savaşları sırasında 1 Mart 1913 tarihinde, Sıhhiye Müdüriyet-i Umumiyesi Teşkilatına Dair Kanun ile Meclis-i Umur-ı Tıbbiye-i Mülkiye ve Sıhhiye-i Umumiye (Cemiyet-i Tıbbiye-i Mülkiye) lağvedildi yerine Sıhhiye Müdüriyet-i Umumiyesi kuruldu. Lağvedilen teşkilata bağlı olarak faaliyet göstermekte olan, Telkikhane-i Osmani, Bakteriyolojihane-i

Osmani, Dâülkelp (Kuduz) Tedavihanesi, Kimyahane ve Küçük Sıhhiye Memurları Mektebi yeni kurulmuş olan Sıhhiye Müdüriyet-i Umumiyesi'ne bağlandı (19). Mütareke yıllarında Telkikhane bu defa; Daülkelp Tedavihanesi, Bakteriyolojihane, Kimyahane ve Sıhhi Müze ile birlikte, İstanbul Hıfzıssıhha Müessesesi'ne katıldı (1922) (7).

Telkikhane-i Osmani aşı üretimini sürdürürken, Ekim 1909'da aşılanmış üç danada hastalık belirtileri görülmüş ve hemen Dr. Hamid Hüsnü (Kayacan, 1898-1952) Bey ile Mekteb-i Baytari-i Askeri muallimleri Said ve Ahmed Efendiler Telkikhane'ye çağırılmıştı. Yapılan incelemede danalarda sığır vebası tespit edilince, hasta hayvanlardan elde edilmiş olan bin kadar aşı tüpü çöpe atılmıştı. O sırada vilayetlere 30.000'den fazla aşı tüpü gönderilmesi gerekmektedir. Ahırların ve telkikhane'nin dezenfeksiyonunu takiben satın alınacak ve aşılanacak hayvanlardan maya eldesi en az 10 gün sonra mümkün olacağından Avrupa'dan aşı getirilmesi, gerekli tedbirlerin alınması ve dezenfeksiyon yapılması için bir veteriner heyetinin Telkikhane'ye gönderilmesi istenmişti (DH.MUİ.24/60, 6 L. 1327 / 21 Ekim 1909).

Ertesi sene Telkikhane-i Osmani'ye bir asistan almak için sınav açıldı. Sınavı kazanan Dr. Şerafettin Mustafa (Kam, ö.1965), 15 Ağustos 1910 tarihinde Dr. Rifat Hüsamettin Paşanın asistanı olarak göreve başladı. Bu sırada Paris'ten getirtilen suş bir buzlukta saklanır dana pasajlarıyla çoğaltılıp aşı hazırlanırdı. Pasajlar arttıkça suşun virülansı azalır, sık sık yeni bir suş ithal edilirdi. Tavşanlardan pasaj ve titraj yapılmazdı. Telkikhane'de eski bir mikroskop ile Roux etüvü vardı ve kültür bile yapılmazdı. Dr. Şerafettin Mustafa'ya buyon ve jelöz hazırlama görevi verilmişti. Telkikhane yeniliklerin gerisinde kalmıştı.

31 Temmuz 1913 günü müdürlük görevine başlayan Dr. Kemal Muhtar (Özden, 1874-1956), genç asistan Dr. Şerafettin Mustafa'nın, teorik ve pratik bakteriyoloji eğitimi almak ve çiçek aşısı hakkındaki yenilikleri öğrenmek üzere Paris'e gönderilmesini sağladı. Dr. Şerafettin Mustafa, Pasteur Enstitüsü'ndeki kurslara devam etti (1913-1914) (20). Dr. L. Camus'nün modern

aletler ve cihazlarla donatılmış laboratuvarında çalıştı. Aşı üretiminde kullanılan aletlerin sterilize edildiğini, pasaj salonlarıyla, aşılı hayvan ahırlarının, emülsiyon odalarının her gün dezenfekte edildiğini gördü. Rekolte özel kapaklı şişeler içinde gliserinsiz olarak elektrikle çalışan buzlukta, -15 ile -18 derecelerde saklanıyordu. Gerekliğinde emülsiyon odasında ezme makinelerinden geçirilerek gliserinle karıştırılıp haftalarca bekletildikten sonra titraj yapılıyordu. Bakteriyolojik kontrolde streptokok ve stafilokok bulunmamasına dikkat ediliyor, saprofitler sayıldıktan sonra istenen yerlere gönderiliyordu. Dr. Şerafettin Mustafa orada titrajı öğrendi. Danalardan pasaj yaptıkça virülans azaldığından Dr. Camus, titrajda virülansı azalan suşları tavşanlarda yaptığı pasajlarla aktif hale getirmekteydi. Gördüğü her yeniliği, Telkikhane-i Osmani Müdürü Dr. Kemal Muhtar'a yazıyor, buzlukların yararını ısrarla vurguluyordu. Paris'te şehir meydanında yapılan bir aşılamaya tanık olmuştu (1913). Belediye Dairesi önünde aşı yapılacağı ilân edilmiş, bir aşıcı Belediye Dairesi'nin önüne getirilen dananın püstüllerinden aldığı taze virüs ile isteyenleri aşılamıştı. Bakteriyolojik kontrol ve titraj yapılmadan uygulandığı için aşılananlarda flegmon, lenfajit görülse de Parisliler buna aldırıyor, meydanlarda yapılan aşılarla çok rağbet ediyordu. Bu yöntem Paris'te 1914, Bordo'da ise 1925 yılında kanunla yasaklanmıştı (21).

Dr. Kemal Muhtar göreve başladıktan sonra bazı uygulamaları değiştirmeye başladı. İlk olarak aşı mayalarını kapaklı petri kutularına koydurdu. Havanlar ile aşı üretiminde kullanılan bütün alet-edevatı Pastör fırınında sterilize ettiriyordu. Hazırlanan aşı, tüplere ağızla çekilmekteydi. Çok sakıncalı olan bu yöntem, depoda bulunduğu iki Feliks aletini devreye sokarak son verdi. Kırım buzağuları ve yerli buzağuların yerine daha uygun bulunduğu manda malaklarını kullanmaya başladı. Aşılanan hayvanların püstüllerinden alınan aşı maddesinin etkinliği tavşanlar üzerinde denenmeye, iyi sonuç alınırsa 15-30 gün gliserin ile temas ettirilerek soğukta bekletildikten sonra kontrol numarası konup

dağıtılmaya başlandı. Gliserin virüsün yüksek titrede saklanmasını sağladığından tercih edilmekteydi. Aşılar gönderildikleri yerlerde buzlukta veya soğuk mahzenlerde korunmazsa bozulmakta ve etkinliğini yitirmekteydi. Bu nedenle aşıcılar ve hekimlere, sık sık bir kerede yüklü miktarda aşı istememeleri ve aşıları soğukta muhafaza etmeleri ihtar edilirdi. Aşıların ideal korunma vasatı -5 ve -15 derecedeydi. Bu soğukluk ancak elektrikle elde edilebilirdi ki o yıllarda mümkün değildi. Dr. Kemal Muhtar, muhtemelen Dr. Şerafettin Mustafa'nın Paris'ten yazdıklarının etkisiyle bir buzluk tasarladı. "Kemal Muhtar Buzluğu" adı verilen bu buzlukta 24 saatte 14 okka buz ile -14 derece soğukluk elde edilebiliyordu. Kemal Muhtar Buzluğu, metalden yapılmış dikdörtgen şeklinde kapaklı bir kazandı. Çevresini saran 15 cm genişliğindeki boşluğa buz parçaları konur, onun çevresinde bulunan 20 cm genişliğindeki alan ise buzların ortam ısısından etkilenmemesi için katkı maddesiyle doldurulurdu. Kazan ile çevresindeki buzların ve katkı maddelerinin üstünü örten kapaklar sayesinde buzların erime süresi uzamaktaydı. Aşılar bu buzlukta bir sene bozulmadan korunabiliyordu (9,20,22) (Tablo 2).

Dr. Şerafettin Mustafa, Paris'ten döndüğünde Osmanlı Devleti Birinci Dünya Savaşı'na girmişti. Çanakkale savaşları sırasında Afyonkarahisar'a gönderildi. Orada hazırladığı çiçek aşıları savaş boyunca kullanılmış, ülkenin hiçbir yerinde ve orduda çiçek epidemileri görülmemiştir (21). Birinci Dünya Savaşı sırasında Telkikhane-i Osmani, Anadolu'ya 27.688.449 doz çiçek aşısı göndermiştir (1914-1919). Kurtuluş Savaşı'nda Anadolu'ya posta kesilince Hilal-i Ahmer (Kızılay) Cemiyeti kanalıyla 3.708.000 doz aşı yollamayı başarmıştır (1920-1922). Mütareke döneminde İtilaf Devletleri ordularında ve göçmenlerde kullanmak üzere 211.020 doz çiçek aşısı almıştır (1920-1921) (9).

1919 yılında Telkikhane'de aşı üretimi, 1892'den beri kullanılmakta olan Kırım danalarından yapılmaktaydı. Sağlıklı Kırım danasının memesi ile karnının etrafındaki tüyler tıraş edilip sabunlu sularla iyice yıkanır, kloroform ile silinip ovulurdu.

Tablo 2. Telkikhane-i Şahane’de üretilen aşı tüpü sayıları,1892-1913 (20)

Yıl	Aşı Tüpü Sayısı	Yıl	Aşı Tüpü Sayısı
1892	428	1903	139.179
1893	5.597	1904	265.048
1894	12.721	1905	223.884
1895	48.356	1906	254.344
1896	45.183	1907	233.135
1897	76.458	1908	233.335
1898	144.927	1909	275.966
1899	127.682	1910	332.545
1900	137.046	1911	631.816
1901	14.770	1912	666.885
1902	195.373	1913	1.427.059

Steril cerrah çakısıyla (neşter) 4-6 cm uzunluğunda birbirine paralel yüzeysel kesiler yapılır, bu kesilere aşılı bir danadan alınmış aşı mayası sürülür, aşı mayası kuruduktan sonra dana ahıra götürülürdü. Ahırın zemini mermer duvarları çini ya da yağlı boyalıydı ve gayet temiz ve havadardı. Başında 24 saat bekleyen nöbetçi; hayvanı yatırmamaya dikkat eder, sabah akşam ateşini ölçer, süt ve yumurta ile beslerdi. Ahırda hayvanı sineklerden korumak için sinek kâğıdı ve yelpaze bulundurulurdu. Altı gün sonra dana ameliyat masasına bağlanır, steril penslerle püstüllerin kabukları kaldırılıp altındaki, “leb/dudak” adı verilen pülp alınır, kültür yapılarak; streptokok, stafilokok, koli basili gibi bakterileri içerip içermediğine bakılırdı. Bu işlemler sonunda gliserinle karıştırılıp steril tüplere çekilir, uçları kapatılan tüpler buzluğa konurdu. Veteriner ve hekimlerin katılımıyla hayvan kesilip ciğerleri kontrol edilir, aşılar ancak hayvanın tüberkülozlu olmadığına dair rapor geldikten sonra kullanılırdı. Yakın yerlere gönderilecek aşı dört hafta buzlukta bekletilirdi (23).

Dr. Şerafettin Mustafa, 1921 başlarında, Münih

Çiçek Aşısı Enstitüsü’nde suşlardaki doğal bakterilerin üremesini azaltan bir yöntemi, Hamburg Çiçek Aşısı Enstitüsü’nde de suşlarda bulunan doğal bakterileri virülansını etkilemeden yok etmeyi öğrendi. İstanbul’da bu konuda yaptığı çalışmalarını deney mahiyetinde kaldığından hazırlanan aşılar serum fizyolojikli gliserinden başka bir antiseptik karıştırılmadan sevk edilmeye devam etti (21).

#### İstanbul Telkikhanesi / İstanbul Çiçek Aşısı Müessesesi

Cumhuriyet ilân edildikten sonra, “İstanbul Telkikhanesi” adıyla faaliyetine devam eden telkikhane o sırada modern bir enstitüydü. Daha sonra, “İstanbul Çiçek Aşısı Müessesesi” adını aldı. Her sene 5-6 milyon doz çiçek aşısı üretip bütün ülkeye dağıtıyordu. Bu nedenle ülkenin hiçbir yerinde çiçek epidemileri görülüyordu. Sadece 1923 yılında İstanbul’daki Rus göçmenler arasında çiçek salgını çıkmış ve halka bulaşmadan bastırılmıştı. Daha sonra Suriye’den güney vilayetlerimize bulaşan çiçek vakalarını önlemek üzere bu vilayetlere çiçek aşısı gönderilmişti (1931) (21).

Cumhuriyet ilan edilmeden birkaç ay önce 15 Temmuz 1923'te Dr. Şerafettin Mustafa, İstanbul Telkikhane Müdürlüğü ve mütehassıslığına tayin edildi. Avrupa'daki aşı enstitülerinde gördüğü yenilikleri uygulamaya başladı. Araştırmaları sonunda aşılama elverişli hassas, gülbüz ve sağlıklı hayvanların, İstanbul ve civarı ile Trakya'da bulunduğunu tespit etti ve oralardan getirttiği hayvanları kullanmaya başladı. Aşılacak hayvanların sıcak sabunlu sular ve fırçalarla yıkanması için banyolar yaptırdı. Sineklerle karşı bütün pencerelere tel örgüler koydurttu. Emülsiyon odasının modern ezme ve süzme makineleriyle, sterilizasyon odasının en son sistemde sterilizatörler ve otoklavlar ile donatılmasını sağladı. Müstahzırlara yeni kurallar koydu. Aşılama yapacak müstahzıra yıkanıp sterilize edilmiş gömlek giyme, kauçuk önlük ve eldivenler takma mecburiyeti getirdi. Aşılı hayvanların başında gece gündüz bir müstahzir bekletir, her gün bütün mekânları dezenfekte ettirirdi. İthal suşun virülansı dana pasajlarıyla zayıflıyordu. Suşu aktif olarak saklamak için tavşan pasajları yapmak gerekmektedir. Bunun için yüzlerce tavşan yetiştirdi. Bir yandan da suşun virülansını yüksek tutmak amacıyla araştırmalar ve deneyler yapmaktaydı. Bir deneyinde Darülaceze kreşindeki üç-beş aylık çocukları aşıladı. Bir hafta sonra püstüllerinden aldığı suşla bu defa genç bir danayı aşıladı. Mükemmel bir reaksiyon oluştuğunu gördü. Fakat çocuklardan pasaj yapmak pratik bir yöntem değildi. Yerli tavşanlarda da Dr. Camus'nün laboratuvarındaki reaksiyonu alamıyordu. Başka bir hayvandan pasaj yapmalıydı, merkep yavrularından pasaj yapmayı düşündü. Beş altı aylık iki merkep yavrusu tedarik edip bunları Telkikhane'de bulunan ithal suş ile aşıladı. Fevkalade reaksiyon veren merkep yavrularının püstüllerinden aldığı suşu, danalara ve malaklara geçirdiğinde şiddetli reaksiyonlar ortaya çıkınca, dana ve malakların dördüncü pasajını mutlaka merkep yavrularında yapmaya başladı. Bundan sonra suş ithaline son verilmiş ve bu yüksek virülanlı suş kullanılmıştır. Ancak suşların saklandığı iki Kemal Muhtar Buzluğu'nda soğukluğu aynı derece tutmak

zordu, devamlı buz ve tuz takviyesi gerekiyordu. Dr. Şerafettin Mustafa, Paris'ten elektrikli soğutucu getirtti. Bu soğutucuda güvenle saklanan suşlar, aşı gerektiğinde numara sırasıyla emülsiyon odasında hazırlanıp, en az dört hafta serum fizyolojikli gliserinde bekletilir, titraj ve bakteriyolojik kontrolden sonra istenen yerlere gönderilirdi (21).

1925'te bilgisini artırmak amacıyla gittiği Viyana Çiçek Enstitüsü'nde, reaksiyon başlar başlamaz rekolte yapılması ve hemen ikinci bir hayvana pasaj yapılması gerektiğini ve ne kadar erken rekolte yapılırsa virülansın o kadar yüksek olduğunu öğrenmişti. Viyana'dan döner dönmez virülansı azalmış bir virüsle aşıladığı danadan 3x24 saatte rekolte yapıp elde ettiği virüsü hemen karşısında hazırlanan ikinci danaya geçirmiş, ikinci danadan 3x24 saat sonra aldığı virüsle bir malağı aşılamıştı. Son malaktan elde edilen virüs fevkalade aktifti. Bu deneyden sonra Dr. Şerafettin Mustafa rekolteyi daima 4x24 saatte yaptı.

Bu arada kurumun adı, İstanbul Çiçek Aşısı Müessesesi olarak değiştirildi. Çalışmalarına devam eden Dr. Şerafettin Mustafa, insan çiçeği virüsünden merkep pasajlarıyla ikinci bir suş elde etti ve çiçek aşısı üretiminde bu suşu kullanmaya başladı. İstanbul Çiçek Aşısı Müessesesi, 31 Haziran 1934 tarihinde kapatılarak Ankara'daki Merkez Hıfzıssıhha Müessesesi'ne nakledildi. İstanbul Çiçek Aşısı Müessesesi Müdürü Dr. Şerafettin Mustafa da Merkez Hıfzıssıhha Müessesesi'nde yeni kurulmuş olan, "Çiçek Aşısı Şubesi" mütehassıslığına tayin edildi (2 Haziran 1934). İstanbul Çiçek Aşısı Müessesesi'nin bütün araç-gereci ve teçhizatı yeni açılmış olan bu şubeye taşındı. Dr. Şerafettin Mustafa, insan çiçeği virüsünden merkep pasajlarıyla elde ettiği suş ve kullanıma hazır iki buçuk milyon doz çiçek aşısını özel olarak yaptırdığı buz kutuları içinde Ankara'ya götürdü, Çiçek Aşısı Şubesi'ni yerleştirip düzenledikten sonra, İstanbul'dan getirdiği suş ile aşı üretimine devam etti (21).

Dr. Şerafettin Mustafa; merkeplerde pasaj yöntemiyle suşun virülasyonunu korumayı icat

etmiş olması, aşının bakteriyolojik kontrol usullerini geliştirmesi, aşı hayvanlarının seçilmesinde ve aşılmasında temizlik ve sterilizasyona önem vermesi ve zamanın en modern metotlarını titizlikle uygulamış olması nedeniyle Türkiye’de çiçek aşısı üretimine önemli katkılarda bulunmuştur.

### Vilayetlerdeki Telkikhane Şubeleri

İstanbul’da faaliyet göstermekte olan Telkikhane-i Şahane’de hazırlanan çiçek aşısı tüpleri, zamanın ulaşım şartlarında geniş Osmanlı ülkesinin her yerine süratle gönderilemiyordu. Uzak ve sıcak bölgelerde bulunan vilayetlere postayla gönderilen aşı tüpleri hem uzaklık hem de sıcaklık nedeniyle yolda bozulmakta ve aşılar tutmamaktaydı. Bu duruma bir çare olmak üzere belli vilayetlerde Sıhhiye Müfettişlerinin nezareti altında birer telkikhane şubesi kurulması için faaliyete geçilmiş ve ilk olarak; Aydın, Manastır, Yanya, Erzurum, Van, Bitlis, Diyarbakır, Mamuretülaziz (Elazığ), Halep, Bağdat, Basra Yemen, Beyrut, Kastamonu ve Adana’da birer şube açılması kararlaştırılmıştı (DH. MKT. 2211/12, 5 S. 1317/22 Haziran 1899). Daha sonra, Aydın vilayeti İstanbul’a yakın olduğundan gönderilecek tüplerin bozulmayacağı, Manastır ile Yanya ve Halep ile Adana vilayetleri de birbirlerine civar olduklarından, birinde kurulacak telkikhane şubesinin yeterli olacağı düşünüldü (DH.MKT. 2227/22, 22 RA. 1317/31 Temmuz 1899). Ancak bu şubelerin kısa sürede aşı üretimine geçmesi mümkün olamadı. Yemen vilayeti açılması kararlaştırılan telkikhane şubesi için alet-edevat ücreti olarak 4.000 kuruşun hemen gönderilmesini istemiş ve telkikhane görevlendirilecek olan müstahzırın maaşını ödeme imkanları olmadığını belirtmişti (DH. MKT. 2500/52, 1 RA. 1319/10 Temmuz 1899).

Basra vilayeti, Dahiliye Nezareti’ne çektiği telgrafla, araç gereçleri tamamlanan telkikhane şubesinin 21 Mart 1900 tarihinde çiçek aşısı yapmaya başladığını bildirmiştir (DH. MKT. 2327/57, 1 Z. 1317/1 Nisan 1900). Ancak birkaç sene sonra Basra belediye reisi; tahsisatı verilmediği için buzağı alıp aşı mayası

hazırlanamadığını, sıhhiye memurlarına yarım maaş ödendiğinden telkikhane şubesinin kapatıldığını, bu yüzden doğacak mesuliyeti kabul etmeyeceğini bildirmiştir. Bunun üzerine Basra vilayetine; uzak vilayetlerde telkikhane şubeleri kurulmasından maksat, binlerce kişinin çiçek hastalığının pençesinden korunması ve hastalığın yayılmasının önlenmesi olduğundan bu telkikhane şubesinin derhal açılması, tahsisatının hemen ve bundan sonra da muntazaman ödenmesiyle aşı üretimine devam edilmesi ve istatistik cetvellerinin muntazaman gönderilmesi tebliğ edilmiştir (DH.MKT.1123/59, 25 Ş.1324/14 Ekim 1906).

II. Abdülhamid çiçek illetinin yayılmasını önlemek için; Şam, Bağdat, Musul, Erzincan, Yemen, Trablusgarp ve Manastır’da birer telkikhane şubesi kurulmasını emretmiş ve yapım çalışmaları başlamıştı (DH.MKT.1105/77, 21 C. 1324/12 Ağustos 1906). Babiâli ile Telkikhane-i Şahane ve vilayetler arasında 1905-1908 yıllarında yapılan yazışmalardan telkikhane şubelerinin verimli çalışmadıkları anlaşılmaktadır. Basra, Suriye ve Bağdat vilayetlerindeki telkikhane şubeleri aşı istatistiklerini göndermedikleri için, bu vilayetlerde aşılama yapıp yapılmadığının meçhul olduğu dile getirilince, Dahiliye Nezareti bu vilayetlere muntazaman bilgi verilmesini tebliğ etmişti. Bağdat Valisi hazırlanan aşılama sıcaklığının etkisiyle kısa sürede bozulduğundan eylül ayından itibaren telkikhane şubesinde hazırlanan aşılama, aşı memurları, sivil ve askeri hekimler tarafından mart sonuna kadar yapıldığını 1904 yılının altı ayında 13.032 çocuğun aşılandığını bildirmişti.

Musul Valisi, o havali ahalisinin cehalet, kaba ve inatçı mizaçları nedeniyle aşığı itimat ve riayet etmediklerini, İstanbul’dan uzaklık ve yörenin sıcaklığı dikkate alınmadan paketlenmiş aşı tüpleri postalarda etkinliklerini kaybettikleri için aşılama tutmadığını dile getirip Musul’da bir telkikhane şubesi kurulmasını istemişti. Musul telkikhane şubesinin henüz binası yapılmamışken, 20 Haziran 1907’de Tabip Kerim Abdulahad Efendi müdür olarak tayin edilmiş, fakat binası ve gerekli alet edevatı olmadığından



çalışmamış, aylarca maaşı ödenmediği için Nisan 1908'de yarım maaşla belediye tabip vekilliği yapmaya başlamıştı (DH.MKT.2698/36,7 Z.1326 /31 Aralık 1908). San'a telkikhane şubesi Ocak 1911'de çiçek aşısı hazırlamaya başlamıştır (DH.İD.47/15, 28 M.1329/29 Ocak 1911).

Bağdat şubesinde bir müstahzırdan başka çalışan olmadığı için aşı mayası yenilenemiyor ve aşılamalardan iyi sonuç alınamıyordu. Şam şubesi ise senede üç ay çalışmaktaydı. İstanbul'dan Hicaz ve Yemen'e gönderilen aşılardan iyi sonuçlar alındığını dikkate alan Sıhhiye Müdüriyet-i Umumiyesi, Bağdat ve Şam Telkikhane Şubelerinin kapatılmasına karar verdi (20 Aralık 1913) (24). Diğer telkikhane şubelerinin de Birinci Dünya Savaşı sırasında veya sonunda faaliyetine son verildiği düşünülmektedir. Bu gelişmelerden, vilayetlerde kurulması planlanan telkikhane şubelerinin tamamının açılmadığı, faaliyete geçirilenlerin de verimli çalışmadığı anlaşılmaktadır.

#### Hamidiye Etfal Hastanesi Kızıl ve Kuşpalazı Serumlarıyla Çiçek Aşısı Darülistihzarı

1900'lerin başlarında en sık görülen çocuk hastalıkları kızıl ve kuşpalazı için serum ve çiçek hastalığı için aşı üretmek üzere hastanenin bahçesinde yaptırılmıştır. Bu aşı üretim ünitesinin planı Başhekim İbrahim Paşa ile hastanenin bakteriyoloğu Kym. Süleyman Nuri Bey tarafından çizilmiştir. Biri hayvanlara diğeri laboratuvar ile deney hayvanlarına ayrılmış iki bölümü vardı. Hayvanları aşılama ve kan alma işlemlerinin yapıldığı bölüm son sistemde araç gereç ile donatılmıştı. Laboratuvar bölümünde; bir masa, araç-gereç dolapları, kültürlerin bulunduğu dolaplar, ocak ve elektrikle çalışan etüv bulunmaktaydı. Deney hayvanları dairesindeki 12 bölmenin her biri; tavşan, kobay, fare gibi hayvanlara ayrılmıştı. Burada 1904 yılında çiçek aşısı üretilmekteydi (25).

#### Sivas Çiçek Aşısı Darülistihzarı

Birinci Dünya Savaşı sırasında 1917'de Sivas'ta kurulmuş olan Daülkelp (Kuduz) Tedavihanesi'nde,

Kurtuluş Savaşı'nda Anadolu'ya çiçek aşısı dağıtmak amacıyla, Çiçek Aşısı Darülistihzarı (Hazırlama Evi) faaliyete geçirilmiş ve adı Sivas Sıhhi Müessesesi olarak değiştirilmişti (1920). Müdürlüğe getirilen Dr. Tevfik İsmail (Gökçe), aynı sene ayda 200.000, 1921'de üç milyon, ertesi sene de beş milyon doz çiçek aşısı hazırlamıştı. 1925'te 507.550, 1926'da 574.405, 1927'de 486.050 ve 1929'da 407.500 doz aşı üretilmişti (26). Bu aşıların uygulanması sayesinde 1925'te Sivas ve çevresinde tespit edilen 19 çiçek vakası 1926,1928-1929 yıllarında bire düşmüştü, 1927 yılında ise hiç çiçek vakası görülmemişti. Ankara'da Merkez Hıfzıssıhha Merkezi kurulduktan sonra Sivas'ta çiçek aşısı üretimine son verilmiştir (1929) (27)

#### Türkiye Cumhuriyeti Merkez Hıfzıssıhha Müessesesi Çiçek Aşısı Şubesi

Türkiye Cumhuriyeti'nin temelleri, 23 Nisan 1920'de Türkiye Büyük Millet Meclisi'nin Ankara'da açılmasıyla atılmış ayrıca Kurtuluş Savaşı'nın buradan yönetilmesi Ankara'yı başkent konumuna getirmişti. Lozan Barış Antlaşması imzalandıktan sonra İstanbul'un ve Ankara'nın başkent yapılmasını isteyenler arasında bir tartışma başlamıştı. Başkent tartışmaları İsmet Paşanın (İnönü), "Türkiye Cumhuriyeti'nin başkenti Ankara'dır" ifadesiyle verdiği tek maddelik kanun teklifinin kabul edilmesiyle son bulmuştur (13 Ekim 1923). Bundan sonra devlet yönetimi başkent Ankara'da yapılmaya başladı. Sıhhat ve İçtimai Muavenet Vekâleti (Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı) de Dr. Refik Saydam döneminde (1925-1937) örgütlendi. Koruyucu hekimliğe önem veren Dr. Refik Saydam, Türkiye Cumhuriyeti Merkez Hıfzıssıhha Müessesesi'nin kurulmasına önayak oldu (27 Mayıs 1928). Merkez Hıfzıssıhha Müessesesi, Ankara'da bulunan Kimyahane ile İstanbul ve Sivas'taki bakteriyolojihanelerin bir araya toplanmasıyla oluşturuldu. (28). Merkez Hıfzıssıhha Müessesesi; kimya, bakteriyoloji, immünobiyoloji ve farmakodinami olmak üzere dört şube ile faaliyete geçti (29).1934 Yılında kapatılan, İstanbul Çiçek Aşısı Müessesesi, Çiçek Aşısı Şubesi adıyla beşinci şube



olarak Merkez Hıfzıssıhha Müessesesi'ne eklendi. Böylece 1840 yılında başlayan ve uzun yılların tecrübelerini içeren çiçek aşısı üretimi Merkez Hıfzıssıhha Müessesesi'ne taşınmış oldu.

Çiçek Aşısı Şubesi faaliyete geçtikten bir yıl sonra yürürlüğe giren, Ankara Merkez Hıfzıssıhha Müessesesinde Kullanılacak Yabancı Uzmanlara Ait Kanun (2755 sayılı ve 3.06.1935) ile Sıhhat ve İçtimai Muavenet Vekilliği, Ankara Merkez Hıfzıssıhha Müessesesi'nin çeşitli bölümlerine getireceği yabancı uzmanlarla beş senelik sözleşme yapmakla yetkilendirildi (30) Bunun üzerine; Emil Gotschlich (Berlin) Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü Birinci Direktörlüğü ile Bakterioloji Şubesi Direktörlüğüne, Stefan Baecher (Viyana) İmmünoloji / Seroloji Şubesi, Paul Pulewka (Tübingen) Farmakoloji Şubesi ve Eduard Scheller (Almanya) Kimya Şubesi Direktörlüklerine tayin edildiler. Ancak, Çiçek Aşısı Şubesi Türk bilim insanları tarafından yönetilmeye devam etmiştir. Dr. Refik Saydam'ın 8 Temmuz 1942 günü vefatından sonra yürürlüğe giren, Türkiye Cumhuriyeti Merkez Hıfzıssıhha Müessesesi Adının Değiştirilmesi Hakkında Kanun (14 Ağustos 1942 ve 4288 sayılı) ile adı, Türkiye Cumhuriyeti Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü oldu.

1942 Yılında Suriye ve Irak'ta görülen çiçek epidemisi, bu ülkelerle sınırlarımıza yakın illerden Mardin'de Temmuz 1942'de başlamış, kısa sürede Urfa, Siirt, Diyarbakır'a yayılmış, Kasım ayında ise İstanbul, İzmir ve diğer vilayetlerde çiçek vakaları ortaya çıkmıştı. Bu nedenle 1942 Yılında 220.000 kişi aşılanmış, Merkez Hıfzıssıhha Merkezi'nde 17 milyon doz aşı depolanmıştı. Çok geçmeden 1956 sonlarında İran, Irak ve Lübnan'da çiçek epidemileri çıkması üzerine Doğu ve Güney-doğu illerimizde genel aşı uygulaması yapıldı (31).

1948 Yılında çiçek aşısı hazırlanırken, ikinci dana pasajından elde edilen suş 6 ay kadar (-15, -20) derecelerde bekletilir, sonra 6 misli sulandırılmış gliserin ile ezilirdi. Sulandırılmış gliserin; 75 kısım saf gliserin ve 25 kısım damıtık su ile karıştırılır, 120 derece otoklavda yarım saatte sterilize edilirdi.

Sulandırılmış gliserin ile ezilen suş, antiseptik konmadan önce ince süzgeçten süzülüp, 24 saat oda ısısında ve birkaç hafta da (+5) derecede bırakılırdı. Bu suretle hazırlanan aşının titrajı tavşan ve kobaylarda, spesifitesi ise kobaylarda kontrol edilirdi. Ardından anaerob ve aerob kültürlerde aşının içerdiği jerm miktarı ile bunların patojen olup olmadıkları tayin ve kontrol edildikten sonra 60 derecede 30 dakika ısıtılarak atenüe edilirdi (32).

Çiçek aşısı 1961 yılından itibaren İngiltere'deki Lister Enstitüsü (The Lister Institute of Preventive Medicine) yöntemi esas alınarak hazırlanmaya başlandı. Yeni hazırlama yöntemi aşının üretim miktarı ve kalitesine birçok üstünlük kazandırmıştı. Aşı hayvanı olarak 1-1,5 yaşlarında Çukurova cinsi, sarı tüylü dişi danalar kullanılmaktaydı. Hayvanlar iki-üç hafta veteriner kontrolünde kalır, hastalıkları olmadığı anlaşıldıktan sonra aşıya alınırdı. Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü Virüs Şubesi Mühassısı Dr. Elhan Özlüarda (ö. 2013), yeni aşı hazırlama yöntemini şöyle anlatmıştır: "Aşılama öncesi temizlikte dananın tüyleri kırpılır, operasyon odasına götürülen dana sıcak sabunlu su ve fırça ile iyice yıkandıktan sonra döner ameliyat masasına sol tarafı üzerine yatırılıp bağlanır. Omuzdan kalçaya kadar sağ yanı ve karnı sıcak su ve fırça ile yıkayıp tıraş edilir ve tekrar sabunlu su ile yıkanır, mertiyotatlı suyla durulanır, üzerine eter dökülüp kuruması beklenir.

Tıraş edilip temizlenmiş alanın 8-10 cm içeriden sınırları çizilerek bir emniyet şeridi yapılır. Çizgi içindeki deri yüzeyi steril skarifikasyon aleti ile sağdan sola, yukarıdan aşağıya, kanatmamaya dikkat edilerek çizilir. Bu çizgilerinin üzerine maya olarak kullanılan vaccinia virüs süspansiyonu sürülür, kuruyuncaya kadar beklenir. Masadan indirilen hayvanın aşılı yerleri steril kompreslerle örtülür. Hayvan numaralanıp özel gözlem odasına götürülür. Dört gün boyunca aşılı dananın yatmamasına ve aşılı alanları kirlenmemesine dikkat edilir. Gece gündüz bekleyen bekçiler hayvanların dışkılarını hemen temizleyip kirlenen örtülerini steril bezlerle değiştirirler. Son zamanlarda

hayvanları dışıklarının üzerine oturmaktan menetmek için Malaya'da kullanılmakta olan "asma" yöntemi uygulanmaya başlandı. Buna göre, dana koltuk ve kasık altlarından geçen bantlarla iki yanındaki demirlere bağlanmakta, oturmak istediğinde bağlar çökmesine engel olmaktadır. Dört gün boyunca gözlem altında tutulan hayvanın her gün ateşi ölçülür. Dördüncü gün aşılı alan üzerinde püstüller oluşur.

Lenfin toplanması için dana operasyon odasına getirilip masaya yatırılarak bağlanır. Aşılı alan sabunlu ve steril distile su ve bezle yıkanır. Mertiyolatlı distile su ile durulanıp ıslak steril bezle örtülerek derinin yumuşaması beklenir. Hayvan boğazı kesilerek öldürülür ve kanının tamamen boşalması sağlanır. Derisi renksiz duruma gelince Volkmann kaşığı ile püstüller kazınarak toplanan lenf darası alınmış steril kavanozlara konur. Tartıldıktan sonra numarası ve toplanan lenf miktarı kavanozun etiketine kaydedilir. Lenf işleneceği zamana kadar derin dondurucuda -20 derecede bekletilir.

Lenfi alınmış dananın otopsi yapılar, iç organlarından alınan parçalar bakteriyolojik muayeneye gönderilir. Veteriner ve bakteriyoloji şubelerinin raporları dananın sağlıklı olduğunu onayladıktan sonra alınan lenf aşısı üretiminde kullanılır. Lenf elektrikli döner bıçaklı ezme aletiyle ezilip homojen hale getirilir. İşlenmek üzere derin dondurucudan çıkarılan kavanoz bir süre oda sıcaklığında bekletilir, 1 gr. Jenf, 2cc. steril sulandırıcı ile karıştırılarak ezme aletinde 5 dakika ezilir ve %1 oranında fenol eklenir. Ezilen lenf çift katlı steril tel süzgeçten süzülür, ayrıca soğuk santrifüjde çevrilerek, kontaminasyon bakterilerinden ve kalan iri parçacıklardan temizlenir. Üzerine dana numarası yazılı steril şişelere doldurulup, karanlık ve oda sıcaklığında fenolün bakterilere etkisi için 24-48 saat enkübasyona bırakılır. Enkübasyon süresi sonunda 1 gr. lenfe, 3 cc steril gliserin eklenir, bakteriyolojik kontrol için ekim yapılır. Her danaya ait lenften hazırlanan aşısı süspansiyonunun bakteriyolojik kontrolleri ayrı ayrı yapılır. Bakteriyolojik ve zararsızlık kontrollerinde patojen bakteri içermediği

ve jerm adedinin çok yüksek olmadığı tespit edilen aşısı süspansiyonlarının tekrar aerob ve anaerob kültürler yapılır. Zararsızlık kontrolleri de iyi sonuç verirse bu ana aşısı süspansiyonunun tavuk embriyonu üzerinde titrajı yapılır. Titresi yüksek bulunursa ana aşısı süspansiyonu %50 steril gliserin ile sulandırılır. Böylece üretimi tamamlanan aşısı derin dondurucuda saklanır" (33).

1961 yılının son aylarında İngiltere ve Almanya'da çiçek vakaları görülmüş ve İran'ın sınırlarımıza yakın bölgesinde çiçek epidemisi çıkmıştı. Ülkemizde 1951'de 152 çiçek vakası, 13 ölüm, son olarak da 1957'de 28 çiçek vakası ve 7 ölüm görülmüş ve 1957'den sonra çiçek vakası görülmemiş olmasına rağmen, Sağlık Bakanlığı kitlesel aşılama programı başlatmıştır. Bu aşılama programı kapsamında, Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü'nde üretilen gliserinli aşılarda 10.552.968 kişi aşılanmıştır. Ayrıca enstitünün aşısı istasyonunda 25.911 aşılama gerçekleştirilmiştir (34).

Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü Viroloji ve Virüs Aşısı Şubesi'nde 1964'te başlayan kuru çiçek aşısı üretim denemelerinin ardından 1965'te kuru çiçek aşısı üretilmeye başlanmış ve kuru çiçek aşısı ile yaş çiçek aşısının mukayeseli olarak uygulanacağı bir saha çalışması planlanmıştır. Bu plan doğrultusunda, Nevşehir'e bağlı sekiz köyde 2.552 kişiye iki seri kuru ve bir seri yaş aşısı uygulanmıştır. Kuru aşısı ile %97, yaş aşısı ile %95 oranında olumlu sonuç alınmıştır. Bu saha çalışması ile kuru çiçek aşısının yaz aylarında sıcak bölgelere soğuk zincire ihtiyaç duyulmadan gönderilebileceği ve 25 dozluk bir kuru aşısı ampülü ile 30-35 kişinin aşılanabileceği anlaşılmıştır. Kuru aşısı DSÖ'nün tavsiyesi ve aracılığıyla Hollanda'da Rijksinstituut voor de Volksgezondheid'a kontrol edilmek üzere gönderilmiştir. Bu enstitü 21 Şubat 1966 tarihli yazısıyla kuru çiçek aşısının uluslararası standartlara uygunluğunu onaylamıştır (35).

Mart 1972'de Irak'ta çiçek vakaları çıkınca, Sağlık Bakanlığı, öncelik sınır illerinde olmak üzere bir aşısı kampanyası başlatmıştır. Gliserinli çiçek aşısı stoklanmaya elverişli olmadığından Refik Saydam

Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü üstün bir gayretle çalışarak, Haziran 1972'ye kadar uluslararası standartlar kalitesinde 10 milyon dozdan fazla aşı hazırlayarak illere göndermiştir (Tablo 3). Ayrıca BCG kampanyası kapsamında 1972'nin ilk altı ayında 1.057.207 kişiye çiçek aşısı yapılmıştır. Mayıs 1972 sonuna kadar illerde 4.486.478 kişi aşılanmıştır. Bu sayede, güney doğu illerimize Suriye, Irak ve İran'dan çiçek girişi önlenmiştir (36).

1958'de Sovyetler Birliği Sağlık Bakanı Yardımcısı olan Viktor Mikhailovich Zhadanov (1914-1987), DSÖ Dünya Sağlık Toplantısı'nda çiçek hastalığını eradike edilmesi için küresel bir girişimin başlatılmasını önermiştir. Öneri 1959'da kabul edilmiş ardından 1967'de dünya ölçeğinde yoğun aşılama ve sürveyans eradikasyon programı başlatılmıştır. Program başladığında çiçek hastalığı, Kuzey Amerika (1952) ve Avrupa'da (1953) ortadan kalkmıştı. Ancak dünyadaki 42 ülkede çiçek hastalığı endemik olarak hüküm sürmekteydi. 1971 Yılında, DSÖ Çiçek Eradikasyonu Ünitesi'nin mali ve teknik desteği ile çiçek hastalığının dünyada endemik olarak bulunduğu ülkelerin sayısı 16'ya düşürülmüştür. Hastalığı yok etmeye yönelik istikrarlı çalışmalarla, Ekim 1977'de doğal çiçek hastalığına yakalanan Ali Maow Maalin'den (Somali) sonra başka bir vaka tespit edilmediğinden DSÖ 8 Mayıs 1980'de çiçeğin küresel olarak eradike edildiğini ilan etmiştir (37).

Çiçek hastalığının dünyada eradike edilmesinin ardından DSÖ'nün önerisi üzerine, başka ülkelerde olduğu gibi Türkiye'de de 140 yıldır aralıksız sürdürülmekte olan çiçek aşısı üretimine son verilmiştir (1980). Ardından 14 Aralık 1983 gün ve 181 sayılı Kanun Hükmünde Kararname ile Türkiye Cumhuriyeti Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü'nün adı, "Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı" olarak değiştirilmiştir. Çiçek aşısı dışındaki aşılarda üreten Aşı Üretim Enstitüsü'nün Bakanlar Kurulu kararıyla kapatılmasıyla da 164 yıllık aşı üretimimiz son bulmuştur (2004). Bir süre sonra, 663 Sayılı Kararname ile Dr. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı kapatılmıştır (2 Kasım 2011).

## SONUÇ

Osmanlı Devleti, geniş coğrafyasında hiç eksilmeyen çiçek hastalığı ile sistemli mücadeleyi Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane Aşı İdaresi'nin çiçek aşısı uygulamalarıyla başlatmıştır (1840). Aşı İdaresi, Jenner Usulü (inek virüsünün insan pasajlarıyla çoğaltılması) aşığı ithal suşla hazırlar, doldurulan aşı kalemleri/tüpleri ihtiyaç duyulan vilayetlere gönderilirdi.

Telkikhane-i Şahane Paris'teki aşı evleri örnek alınarak kurulmuş, aşı üretiminde Paris ve Avrupa'daki yöntemleri uygulayarak yerli danalardan çiçek aşısı üretimine başlamıştır (1892). Mekteb-i Tıbbiye-i Şahane içindeki bir laboratuvarında dört yıl faaliyet gösterdikten sonra, 1896'da Avrupa'dan ithal edilmiş son sistem araç gereçlerle donatılan müstakil binasına taşınmıştır. Telkikhane-i Şahane'nin en önemli özelliği, yabancı uzmanlara ihtiyaç duyulmadan kurulmuş ve yönetilmiş milli aşı kurumumuz olmasıdır. Faaliyet göstermiş olduğu yıllarda yaşanan siyasi değişimlerle birlikte adı değiştirilmiş, II. Meşrutiyet'ten sonra "Telkikhane-i Osmani", Cumhuriyet döneminde "İstanbul Telkikhanesi / İstanbul Çiçek Aşısı Müessesesi" adlarıyla aşı üretimini sürdürmüştür.

Aşıların saklanması teknolojik gelişmelere bağlı olarak zamanla değişime uğramıştır. Önceleri balmumu kaplı küçük yağ şişelerinde serin yerlerde, 1896'dan itibaren de yeni Telkikhane-i Şahane binasındaki buzlukta saklanmıştır. 1915 yılından sonra, Kemal Muhtar Buzluğu, sonra da Paris'ten getirtilen elektrikli buzdolapları kullanılmıştır.

Üretimi ve saklanması kadar, aşıların sevkiyatı da önemliydi. Aşı kalemleri/tüpleri İstanbul'dan vilayetlere normal postayla gönderilirdi. Uzak vilayetlere gönderilen aşı kalemlerinin/tüplerinin teslimi çok zaman aldığından aşılarda yolda bozulur, tutmazdı. Buna bir çözüm olmak üzere 1900'lerin başında Telkikhane şubeleri kurulması gündeme gelmişse de Osmanlı Devleti'nin 1911 Trablusgarp Savaşı ile başlayan ve Cumhuriyet'e kadar devam eden savaşlar sürecinde, uzak vilayetlerde kurulması

**Tablo 3.** Refik Saydam Merkez Hıfzısıhha Enstitüsü Yıllık Çiçek Aşısı Üretimi ve Sevkiyatı, 1934-1977 \*

YIL	ÜRETİM	SEVKİYAT
1934-37	3.4 milyon doz	-
1938-42	5.3 milyon doz	-
1943-46	18.2 milyon doz	-
1947	12 milyon doz	-
1948	26 milyon doz	-
1949	10.3 milyon doz	-
1950	5.580.430 doz	-
1951	4.025.117 doz	-
1952	4.048.745 doz	-
1953	3.652.632 doz	-
1954	3.974.697 doz	-
1955	4.648.895 doz	-
1964	4.561.500 doz	4.602.140 doz
1965	Gliserinli: 9.013.450 doz Kuru: 163.600 doz	9.007.300 doz -
1966	Gliserinli: 6.492.350 doz Kuru: 535.200 doz	6.591.920 doz 539.625 doz
1970	Gliserinli: 6.822.100 doz Kuru: 535.200 doz	6.193.100 doz 539.625 doz
1971	Gliserinli: 6.239.650 doz Kuru: 450.625 doz	6.365.930 doz 289.700 doz
1972	Gliserinli: 13.071.700 doz Kuru: 351.975 doz	13.185.220 doz 40.920 doz
1974	Gliserinli: 4.140.000 doz Kuru: 529.850 doz	4.763.910 doz 354.325 doz
1977	Gliserinli: 5.201.625 doz Kuru: 25.300 doz	14.706.315 doz 186.584 doz

\* 1934-1947 yıllarına ait veriler Erzin ve Balkan (1949) kaynağına (28); 1950-1955 yıllarına ait veriler "Sağlık İşlerimizde 1950 ile 1955 Arasındaki İlerleyiş" başlıklı kaynağa (38); diğer yıllara ait veriler ise Türk Hijyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi yıllık çalışma raporlarına dayanmaktadır.

kararlaştırılan telkikhane şubelerinin tamamı faaliyete geçirilemediği gibi mevcutların aşısı üretimi de verimli olmamıştır.

1840 yılından itibaren aşısı üretiminde geliştirilen yeni yöntemleri öğrenmek amacıyla; Fransa, Almanya, Avusturya ve sonraları İngiltere'deki enstitülere gönderilen yöneticiler ve uzmanlar, Türkiye'deki çiçek aşısı üretiminin gelişmesine önemli katkılar yapmıştır.

Merkez Hıfzısıhha Müessesesi Çiçek Aşısı Şubesi 1934 yılında, Telkikhane-i Şahane'nin devamı olan

İstanbul Çiçek Aşısı Müessesesi'nin araç-gereç ve teçhizatıyla, Müdürü Dr. Şerafettin Mustafa Kam'ın yönetiminde, uzun yıllara dayanan tecrübelerinden süzülen birikimle çiçek aşısı üretimini sürdürmüştür. Dr. Şerafettin Mustafa Kam ithal suşun virülansını yüksek tutmak amacıyla, merkep yavrularını aşılamaş, fevkalade reaksiyon veren merkep yavrularının püstüllerinden aldığı suşu, danalara ve malaklara geçirdiğinde şiddetli reaksiyonlar ortaya çıkınca, dana ve malakların dördüncü pasajını mutlaka merkep yavrularında yapmaya başlamıştı. Bundan sonra suş

ithal edilmemiş ve çiçek aşısı üretiminde Dr. Şerafettin Mustafa Kam'ın elde ettiği suş kullanılmıştır.

Bu makalede Türkiye'de 1840 yılında başlayan ve çiçek hastalığının dünyada eradike edildiği 1980'e kadar geçen 140 yıllık süreçte, çiçek aşısı üretimi ve gelişimi kurumlar üzerinden anlatılırken; aşı üretim yöntemleri, aşı tüpü temini, aşılardan saklanması

ve sevkiyatı gibi daha önce dikkate alınmamış konulara da değinilmiştir. Çiçek aşısı üretiminin modernizasyonuna katkılar yapmış olup da şimdiye kadar gölgede kalmış olan Dr. Şerafettin Mustafa Kam'ın hizmetleri de bu makalede ele alınan ilkler arasındadır. Literatürde çiçek aşısı üretimi hakkında bu kapsamda bir araştırma bulunmamaktadır.

## TEŞEKKÜR

Makalenin son okumasını yapan Prof. Dr. Mehmet Ziya Doymaz'a ve tabloları hazırlayan Arş. Gör. Özlem Bildik'e teşekkür ederim.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

## KAYNAKLAR

1. WHO. The Global Eradication of Smallpox. Final Report of the Global Commission for the Certification of Smallpox Eradication, Geneva, December 1979. Geneva: 1980.
2. Hammersten JF, Tattersall W, Hammersten JE. Who discovered smallpox vaccination? Edward Jenner or Benjamin Jetsy?, Trans Am Clin Clim Assoc, 1979; 90: 44-5.
3. Riedel S. Edward Jenner and the history of smallpox and vaccination. Proceedings (Baylor University. Medical Center), 2005;18 (1): 21-25.
4. Uzluk FN. Hekimbaşı Mustafa Behçet. Ankara: Örnek Matbaası, Tarihsiz: 80-81, 88.
5. Mustafa Ş. Çiçek Aşısı (Variola Vaccinia, Vaccine=Cowpox). İçinde: Uzman MO ed. Sihat Almanakı. İstanbul: 1933: 148-153.
6. Yıldırım N. Türkçe Basılı İlk Tıp Kitapları Hakkında. In Memoriam Ali Nihad Tarlan, J Turk Stud, Vol. 3 (Cambridge 1979): 443-459.
7. Yıldırım N. İstanbul'un Sağlık Tarihi. İstanbul: İÜ İstanbul 2010 Avrupa Kültür Başkenti Projesi, 2010: 32-33, 34, 35, 68, 71, 73, 120-123, 140.
8. Ünver AS. Şanizade Atullah Efendiye Göre Çiçek Aşısı. İçinde: Ünver AS ed. Türkiye'de Çiçek Aşısı ve Tarihi. İstanbul: 1948: 63.
9. Ünver AS (ed). Türkiye'de Çiçek Aşısı ve Tarihi. İstanbul: 1948: 59, 61, 74-75, 167, 186-187, 226, 233-235, 242-243, 248-249.
10. Işıl-Ülman Y. Galatasaray Tıbbiyesi. Tıbbiye'de Modernleşmenin Başlangıcı. İstanbul: İstanbul Bilgi Üniversitesi Yayınları, 2017: 214, 252, 262, 280, 287, 296.

11. Karacaoğlu E. Telkikhane-i Şâhâne Kuruluş Sürecine Dair, Tarih Araştırmaları Dergisi, 2019; 38 (65): 197-250.
12. Telkikhane-i Şahane ve Buzağı Aşısı, Nevsal-i Âfiyet, İstanbul 1315/1899: 111-5.
13. Buzağı Aşısı Ameliyatı, Servet-i Fünun, 1309(1892): 88(4): 148-9.
14. Ünver AS. Telkikhane'nin 1318 İstatistiği. İçinde: Ünver AS ed. Türkiye'de Çiçek Aşısı ve Tarihi. İstanbul: 1948: 170.
15. Kurt B. Kar ve Buz Temininde Modernleşme ve XIX. Yüzyıl İstanbul'unda Karcı Esnafı, Trakya Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Dergisi, 2015; 5(9): 145-167.
16. Nevsal-i Âfiyet. İstanbul 1315/1899: 112.
17. Hüsamettin R. Cüderi-i Bakari-Madde-i Mülakkaha yani 'Aşı", Nevsal-i Âfiyet, İstanbul 1314(1899): 114-7.
18. Ünver AS. Telkikhane Çalışma ve Verimlerini Tetkik. İçinde: Ünver AS ed. Türkiye'de Çiçek Aşısı ve Tarihi. İstanbul: 1948: 177-80.
19. Ergin ON. Sıhhiye Müdüriyet-i Umumiyesi Teşkilatına Dair Kanun. İçinde: Mecelle-i Umûr-ı Belediye. Cilt. VI, İstanbul 1995, 3088-9.
20. Unat EK. Osmanlı İmparatorluğu'nda Bakterioloji ve Viroloji. İstanbul: 1970: 125-126, 28.
21. Mustafa Ş. Müdürü Bulduğum Zamanda İstanbul Telkikhanesinin Kapanışına Kadar Metot ve Çalışmalarımıza ve Müessesenin Ankara'ya Nakline Dair. İçinde: Ünver AS ed. Türkiye'de Çiçek Aşısı ve Tarihi. İstanbul: 1948: 190-200, 202.
22. Muhtar K. Çiçek Aşısı Ne İçin Tutmaz, Sıhhiye Mecmuası, 1331/1916: 3(9-10): 1001-5.
23. Rüştü T. Çiçek Hastalığı. Sıhhiye Nezareti Sıhhiye-i Umumiye Müdüriyet-i Umumiyesi Neşriyatından. 3.bas. İstanbul: 1335 (1919): 18-9.
24. Ünver AS. Bağdat ve Şam Aşhanelerinin Kapatılması Hakkında. İçinde: Ünver AD ed. Türkiye'de Çiçek Aşısı ve Tarihi. İstanbul: 1948: 85.
25. Hastahane-i Âli'nin Kızıl ve Kuşpalazı Serumlarıyla Çiçek Aşısı Darülistihzarı. Hamidiye Etfal Hastahane-i Âlisinin İstatistik Mecmua-i Tıbbiyesi. Dersaadet: 1320/1904: 52-3.
26. Tekir S. Sıhhiye ve Muavenet-i İçtimaiye Vekâleti'nin Kuruluşu ve Erken Cumhuriyet Dönemindeki Faaliyetleri (1920-1930), Belgi, 2019(Yaz): II(18): 1302-26.
27. Aksu M. Sivas Telkikhanesi ve Çiçek Aşısı Üretim Tesisi. VIII. Türk Tıp Tarihi Kongresi, 16-18 Haziran, Sivas-Divriği, 2004. Kongreye Sunulan Bildiriler. İstanbul 2006: 259-64.
28. Erzin N, Balkan OH. "Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Müessesesi Faaliyet" Hakkında (1933-1948), Türk İjyien ve Tecrübi Biyoloji Dergisi, 1949: 9(1): 8-38.
29. Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü, Refik Saydam, 1881-1942, Ölümünün 40. Yılı Anısına. Ankara, 1982: 56-9.
30. Resmi Gazete, Sayı. 3023, 8 Haziran 1935, 5309.
31. Kardaş A. Cumhuriyet Döneminde Çiçek Salgınları ve Alınan Önlemler, The Journal of Academie Social Science Studies, 2020:13(83): 309-21.
32. Erzin N. Çiçek Aşısı Re vaksınasyonlarında Görülen Reaksiyonlar, Türk İjyien ve Tecrübi Biyoloji Dergisi, 1948:8(1): 88-93.
33. Özlüarda E. Çiçek Aşısı İstihsalinde Kullanılan Yeni Metot ve Aşı Tatbikatında Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar, Türk İjyien ve Tecrübi Biyoloji Dergisi, 1962:22(2-3):206-16.
34. Özlüarda E, Durusu Z, Arı A. Memleketimizde 1962 Yılında Yapılan Çiçeğe Karşı Kitle Aşılması ve Elde Edilen Sonuçlar, Türk Hijyien ve Tecrübi Biyoloji Dergisi, 1962:22(2-3):179-201.
35. Özlüarda E. Memleketimizde Kuru Çiçek Aşısı İstihsalı ve Yaş Aşı İle Mukayeseli yapılan Uygulamalardan Alınan Sonuçlar, Türk Hijyien ve Tecrübi Biyoloji Dergisi, 1965:25(2-3):129-52.
36. Özlüarda E. Dünyada Çiçek Salgınları, Türk Hijyien ve Tecrübi Biyoloji Dergisi, 1972:32(2):122-33.
37. "History of Smallpox", <https://www.cdc.gov/smallpox/history/history.html>. Erişim. 15 Mart 2021.
38. Sağlık İşlerimizde 1950 ile 1955 Arasındaki İlerleyiş. Ankara: Sıhhat ve İçtimai Muavenet Vekâleti Yay. No. 196, 1955: 23.

## Medyaya yansıyan söylemlerin sağlık çalışanları ile hasta arasındaki şiddete etkisi

### The effect of disclaimer reflected in the media on violence between healthcare workers and patients

Taylan MARAL<sup>1</sup> (ID), Mehmet ÖZDEMİR<sup>2</sup> (ID)

#### ÖZET

Sağlık çalışanlarına uygulanan şiddetin nedenleri ve sonuçlarının farklı açılardan da değerlendirilmesi gerekmektedir. Yapılan araştırmalar, bir iletişim sorununun olduğunu, ancak bu sorunun sadece sağlık çalışanları ile hasta arasında kalmadığını göstermektedir. Özellikle dışsal etkenlerin kullandığı söylem ve medyanın etkisi, şiddetin meydana gelmesinde önemlidir. Bu açıdan değerlendirildiğinde sağlık çalışanlarına verilen iletişim eğitiminin geliştirilmesi, medya üzerinden söylemin düzenlenmesi ve farkındalık çalışmalarının planlanması sorunun çözümü için önemli etkenlerdir. Bu çalışmanın amacı, kitle iletişim araçları yolu ile verilen mesajların, sağlık çalışanları üzerindeki şiddete yönelik etkisinin araştırılması ve ayrıca şiddet-iletişim ilişkisinin medyaya yansıyan yönünün incelenerek şiddetin önlenmesinde iletişimin önemini vurgulanmasıdır. Bireysel uygulanan fiziki şiddet ile toplumsal uygulanan söylemsel şiddet arasında açık bir ilişki vardır. Toplumun birçok kesimi tarafından takip edilen veya desteklenen kişilerin söylemleri, daha alt kesimde bulunan takipçiler tarafından daha keskin bir şekilde uygulanabilmektedir. Bu durum üç etken arasında cereyan etmektedir: 1-Şiddeti uygulayan, 2-Şiddete maruz kalan, 3-Şiddetin

#### ABSTRACT

The causes and consequences of violence against healthcare workers need to be evaluated from different perspectives. Studies show that there is a communication problem, but this problem is not only between healthcare workers and patients. Especially the discourse used by external factors and the influence of the media are important in the occurrence of violence. From this point of view, improving the communication training given to healthcare professionals, regulating the discourse through the media and planning awareness activities are important factors for the solution of the problem. There is a clear relationship between individual physical violence and social discursive violence. The discourses of people who are followed or supported by many segments of the society can be applied more sharply by the followers in the lower segments. This situation occurs between three factors: The perpetrator of violence, The subject of violence, The cause of violence. What is reflected in the media and the law has always been the "perpetrator of violence" and the "victim of violence". The hidden subject is the one who causes

<sup>1</sup>İstanbul Gelişim Üniversitesi İktisadi İdari ve Sosyal Bilimler Fakültesi, Yeni Medya ve İletişim Bölümü, İstanbul

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Taylan MARAL

Hadımköy mah. Şebeke cad. Tamtürk Sitesi B Blok No: 34 İstanbul - Türkiye

E-posta / E-mail : tmaral@gelisim.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 03.05.2023

Kabul Tarihi / Accepted : 01.06.2023

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.92331

Maral T, Özdemir M. Medyaya yansıyan söylemlerin sağlık çalışanları ile hasta arasındaki şiddete etkisi

Türk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(3): 407 - 418



uygulanmasına neden olan. Medyaya ve hukuka yansıyan her zaman “şiddeti uygulayan” ile “şiddete maruz kalan” olmuştur. Gizli özne şiddetin uygulanmasına neden olandır. Bu çalışma kullanılan söylemlerin daha çok kim tarafından ve ne amaçla kullanıldığı, medyaya yansıyan ifadelerin incelenmesi ve literatür tarama yöntemiyle gerçekleştirilmiş retrospektif bir çalışmadır. Özellikle medya yolu ile takip edilen siyasilere söylemleri, sağlık çalışanları özelinde değerlendirildiğinde söylemin negatifiğine göre eylemin şiddete dönüşmesi büyük oranda artış göstermektedir. Politik mesajların geçmiş-bugün ekseninde değerlendirilmesi ve elde edilen haklar bağlamında uygulanması sonucu, doğrudan şiddet içermese de şiddeti meşrulaştırıcı söylem ve ifadeler sonucunda şiddetin de meydana gelmesini kaçınılmaz kılmaktadır. Sonuç olarak şiddetin, şiddete maruz kalan ile şiddeti uygulayan arasında kalmadığı, söylem ve eylem arasında zihinsel bir çeşit kodlamanın yaşandığı görülmektedir. Medya yolu ile şiddet ifadelerine maruz kalan bireyler ile medyada şiddete yönelik söylemleri yer alan kişilerin toplum üzerindeki etkileri genel olarak aynı sonuçları verebilmektedir. Özellikle ötekileştirici dilin kullanılmaması, şiddetin de meşrulaştırılmaması için önemli bir unsurdur. Bu durum “hak ettiğini görememe” duygusuyla görevi bırakma veya yurtdışına gitme gibi eylemlere de dönüşebilmekte ve sağlık çalışanları özelinde değerlendirildiğinde, algılara yerleşen söylemlerin zamanla fiziksel hale alabileceği görülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** İletişim, sağlık çalışanları, şiddet, medya, söylem

the violence. This study is a retrospective study conducted by examining the discourses used by whom and for what purpose, examining the statements reflected in the media and reviewing the literature. Especially when the discourses of politicians, who are followed through the media, are evaluated in the case of health workers, the transformation of the action into violence increases significantly according to the negativity of the discourse. As a result of the evaluation of political messages in the past-present axis and their application in the context of the rights obtained, it makes it inevitable that violence will occur as a result of discourses and expressions that legitimize violence, even if they do not directly involve violence. Violence goes beyond the perpetrator and victim, as it leads to a mental coding of discourse and action. Exposure to violent expressions in the media can have a negative impact on society, and the use of non-marginalizing language is key to preventing the legitimization of violence. Healthcare workers may quit or leave the country due to feeling undervalued, and violent discourses can become physical over time.

**Key Words:** Communication, healthcare workers, violence, media, discourse

## GİRİŞ

Şiddet olgusunun hayatın hemen her alanında kendini göstermesi, sadece eğitimle açıklanabilecek bir durum olmaktan çıkmıştır. Bu durum, farklı kategoriler altında; sonuçlarıyla, taraflarıyla,

nedenleriyle ve nasıllarıyla incelenen bir bilim alanı haline gelmiştir. Temelde iletişimin istenilen düzeyde gerçekleşememesi nedeni ortaya çıktığı savunulan şiddet unsurları için, şiddetin uygulanmasını tetikleyecek diğer temel etmenlerin varlığını da yok saymamak gereklidir.

Bu noktada temel iletişim modelinin sağlıklı bir şekilde uygulanması, özellikle kişilerarası iletişimde başarılı sonuçlar elde edilmesini sağlayabilmektedir. Temel iletişim modeli veya yaklaşımından kasıt; iletilmek istenen mesajın bir kanal aracılığıyla alıcıya ulaştığı basit ve temel bir döngü anlaşılmalıdır. Lasswell, Gerbner ve Osgood gibi iletişimcilerin geliştirdiği daha öznel ve karmaşık iletişim modelleri farklı alanlarda başarılı ve etkili olabilmektedir. Ancak geliştirilen ve uygulanan iletişim modeli ne kadar başarılı olursa olsun, modelin uygulandığı toplumun genel yapısı, sosyo-ekonomik durumu, politik ve ekonomik istikrarı gibi birçok etmen de modelin uygulanmasındaki başarıyı etkilemektedir.

Kişilerin hastalık veya acil durumlar nedeniyle başvurdukları sağlık merkezlerinde, sağlık hizmeti veren sağlık çalışanları ile (doktor, hemşire, hastabakıcı, teknisyen vb.) yaşadıkları diyaloglar, zaman zaman şiddete dönüşen eylemler olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu çalışmada şiddetin nedenlerini taraflarda (hasta-sağlık çalışanı) aramanın dışında, üçüncü taraf olarak kabul edeceğimiz ancak şiddetin ortaya çıkışını doğrudan-etkileyen üst-dış unsurların etkinliği incelenmiştir.

### Araştırmanın Tipi

Bir olayın veya durumun geriye dönük olarak incelenmesi olarak açıklanabilecek olan retrospektif çalışma yönteminin kullanıldığı araştırmada, sağlık çalışanlarına yönelik kullanılan ifadelerin yansımaları medyaya yansıyan söylemlerle incelenmiştir. Geçmişteki olayları veya durumları analiz etmek için kullanılan ve genellikle hafıza, belgeleme veya arşiv araştırmaları yoluyla yapılan çalışmalarda genel amaç, geçmişteki bir olayın veya durumun nedenlerini, sonuçlarını veya etkilerini belirlemektir.

### BULGULAR

Bu çalışmanın temel bulgusu, siyasilerin söylediği sözlerin sağlık çalışanlarına uygulanan şiddeti etkilediği ve iletişim dilinin ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Araştırma sorusu ise bu etkileşimin ne şekilde gerçekleştiği, siyasilerin sözlerinin

sağlıkçılara uygulanan şiddetle nasıl bağlantılı olduğu ve bu bağlantının nasıl ölçülebileceği gibi konuları kapsamaktadır. Çalışmada veri toplama yöntemi olarak literatür taraması kullanılmış olup, örneklem seçimi süreci doktor Ersin Arslan'ın ölümü üzerine bulunan söylemler ve bunun sonucunda gelişen olaylar olarak belirlenmiştir, çünkü bu olay sağlıkta şiddetin ilk örneği olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada, basında yer alan siyasi söylemlerin sağlık çalışanlarına yönelik şiddet olaylarıyla ilişkisini incelemek için örneklem seçiminde basılı ve dijital medyadaki haberler kullanılmış olup elde edilen verilerin incelenmesinde dilin ve söylemin gücünü ve etkisini anlamak ve açıklamak için kullanılan söylem analizi yöntemi kullanılmıştır.

Elde edilen veriler, iletişim ve şiddet unsurları bağlamında değerlendirilmiş, Dünya Sağlık Örgütü'nün konu ile ilgili araştırmalarıyla da ilişkilendirilerek sağlıkta şiddet unsurunun dünya genelinde yaşanan ve kabul edilen bir sorun olduğu da görülmüştür.

### Şiddet ve Unsurları

Farklı bilimsel alanlarda yapılan çalışmalar, şiddetin tanımının da farklı şekillerde yapılmasını sağlamıştır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) şiddeti, "Kişinin kendisine, bir başkasına, grup ya da topluluğa yönelik olarak ölüm, yaralama, ruhsal zedelenme, gelişimsel bozukluğa yol açabilecek ya da neden olacak şekilde fiziksel zorlama, güç kullanımı ya da tehdidinin amaçlı olarak uygulanması" olarak tanımlamaktadır (1).

Şiddet, çeşitli açılardan ele alınmış ve farklı kategoriler altında incelenmek üzere bölümlenmiştir. Kriminal bir suç eylemi olarak şiddet, İnterpol tarafından da sınıflandırılmış ve bu açıdan öncelikle özel şiddet ve kolektif şiddet olarak iki başlık altında toplanmıştır (2). En çok tercih edilen kategori şekli ise şiddete maruz kalanlara göre ve şiddetin uygulanış şekline göre olan sınıflamadır. Maruz kalanlara göre şiddet başlığında hedef kitle sınıflaması yapılırken, şiddetin uygulanışına göre olan sınıflandırmada uygulanan ortam ve şekli değerlendirilmiştir (3). Şiddetin uygulanış şekline göre şiddet beş başlığa

ayrılmıştır: 1-Fiziksel şiddet, 2-Cinsel şiddet, 3-Ekonomik şiddet, 4-Siber şiddet ve 5-Duygusal şiddet.

Şiddet kelimesi ile doğrudan akla gelen fiziksel şiddet, kaba kuvvet uygulanması yolu ile karşısındaki kişiyi dövmek, yaralamak, baskı altına almak amacı ile uygulanan ve neticesinde ölüme kadar gidebilen bir süreçtir. Ağır psikolojik travmalara, fiziksel yaralanmalara ve sakat kalmalara kadar etki edebilme ihtimali oldukça yüksektir. Şiddetin tüm canlıların içgüdüsel bir tepkisi olduğu fikri de öne çıkarken, insanların diğer canlılardan farklı olarak nedensiz şekilde şiddet gösterdiği görülmektedir. Kimi araştırmacılara göre insanın gösterdiği şiddet eylemleri içgüdüsel değil, çocukluktan itibaren öğrenimsel bir süreçtir (4).

Şiddeti uygulayan kişinin içerisinde bulunduğu toplumun şiddeti algılayış biçimi de şiddetin ortaya çıkışında ve özellikle çıkış nedenleri arasında önemlidir. Şiddetin kalıtsal bir aktarım olduğu yönünde yapılan araştırmalar kesin bir netice vermese de bir bağlantı olduğunu ortaya koymaktadır (5). Bu bağlamda çağdaş toplumlarda şiddet unsurunun aktarımının olmadığı varsayılan kişiler arasında yaygın olmaması da kargaşa ortamından uzak toplumların şiddete eğilim göstermediklerini de ortaya koymuştur. Burada öne çıkan diğer bir hususu ise şiddetin ortaya çıkmasına neden olan çevresel faktörlerdir. Bu çevresel faktörler bireyin şiddet eğilimine farkında olmadan sokulmasına neden olabilmektedir.

Özellikle sosyo-kültürel ve sosyo-ekonomik unsurlar, bireyin şiddet gösterme eğilimini belirleyen önemli değişkenlerdir. Giddens, sosyo-ekonomik ve sosyo-kültürel etkenlerin, bireyin şiddet eğilimi göstermesindeki en önemli unsur olduğunu öne sürmektedir (6). Sosyo-ekonomik ve sosyo-kültürel çevre şiddetin doğmasında önemli bir unsur ise bu durumda şiddeti uygulayan ile şiddete maruz kalma ihtimali olan birey arasında sağlıklı bir iletişimin kurulması, şiddetin ortaya çıkmasını engelleyebileceği düşünülmektedir. Ancak bu noktada şu sorun karşımıza çıkmaktadır: Şiddeti uygulaması

muhtemel kişi ile şiddete maruz kalma ihtimali olan kişinin farklı eğitim ve kültürel çevrelere ait olmaları, dolayısıyla iletişim dilinin yetersiz olması veya etkisiz olması önemli bir faktör olarak düşünülmektedir.

Bireyin veya toplumun şiddete eğilimli olması pek çok farklı faktörden kaynaklanabilir. Yaygın nedenlerden bazıları çevresel faktörler olarak ifade edilebilir. Kişinin yaşadığı çevre, maruz kaldığı şiddet ve suç oranı, ekonomik koşullar, aile, arkadaş çevresi gibi etmenler şiddet eğilimini artırabilir. Bununla birlikte psikolojik faktörler de önemli unsurdur. Öfke, kaygı, depresyon, yoksunluk, düşük özsaygı, duyarsızlık, duygusal çatışma gibi psikolojik faktörler de şiddet eğilimini artırabilir. Kişinin içerisinde bulunduğu çevre ve psikolojik durum haliyle sosyal etkilerle de doğrudan bağlantılıdır. Cinsiyet, yaş, sosyo-ekonomik statü, toplumsal değerler ve normlar gibi sosyal faktörler de şiddet eğilimini etkileyebilir. Yapılan çalışmalarda görüldüğü üzere yüksek testosteron seviyeleri gibi biyolojik faktörlerin de şiddet eğilimini artırdığı görülmüştür. (7). Ancak fiziksel etkilerden çok çevresel ve sosyal etkiler bu durumu daha yakından etkilemektedir. Bazı kültürlerde şiddet, onur, saygınlık ve erkeklik gibi değerlerle bağdaştırılabildiğinden şiddete yönelik eğilim de artabilir. Tüm bu etkenlerin belki de en etkilisi maruz kalma etkisi olarak da ifade edebileceğimiz medyada gördüğü şiddete yönlendirici veya şiddeti maruz gösteren söylemlerin, şiddetin uygulanması sonucunu getirdiği etkidir. Şiddet içeren medya içeriği, şiddet içeren oyunlar ve filmler, şiddeti meşrulaştıran ifadeler, şiddet uygulamanın yolunu açabilecek küçümseyici ve ötekileştirici ifadeler şiddeti normalleştirerek şiddet eğilimini artırabilir (8).

Bu faktörlerin kombinasyonu bireyin veya toplumun şiddete eğilimli olmasına yol açabilir. Ancak bu faktörlerin hepsi şiddet eğilimi için gerekli veya yeterli değildir. Çocukluk dönemine odaklanan şiddetin nedenlerine ilişkin bir perspektif, çocuklukta yaşanan kötü muamelelerin bireylerde davranış bozukluklarına yol açtığını ve saldırgan davranışları

artırdığını öne sürmektedir. Bu yaklaşıma göre, çocuk çevresindeki şiddet örnekleriyle kötü modelleme yapmakta ve olumsuz davranışlar pekiştirme yoluyla yerleşerek kişilik özellikleri haline dönüşmektedir. Ayrıca, bu süreçte duyguların ifade edilmesinde eylemler sözcüklere tercih edilmektedir. Şiddetin nedenlerine dair açıklamalardan biri, Freud'un çalışmalarına dayandırılmaktadır. Freud'a göre, insanlarda yer alan "thanatos" adlı içgüdü, kendine zarar verme eğilimine sahiptir ve bu eğilimin ölümcül sonuçlarının engellenme isteği başkalarına yönelik saldırganlıkla giderilebilmektedir. Bu bağlamda, saldırganlık, bireyin kendi kendini tahrip etme içgüdüünün başkalarına yönlendirilmesinden kaynaklanmaktadır (9).

### 1. İletişimin Şiddeti Önleme Etkisi

Birçok farklı tanımla yapılsa da iletişim en genel tanımıyla; "Fikir ve bilginin herkesçe aynı biçim ve değerle anlaşılır hale getirilmesi, paylaşılması ve karşılıklı etkinin sağlanması" olarak ifade edilebilir (10). Tanımdan anlaşılacağı gibi önemli olan unsur "karşılıklı" olmasıdır. İletişimin tamamlanması ve iletişim sürecinin sağlıklı gelişebilmesi için mesajı gönderen ile alıcının aynı frekansta iletişim kurabilmeleri çok önemlidir. İletişim kurmanın temel amacı, gönderici tarafından iletilen mesajın alıcıya iletilmesi ve aynı şekilde geri dönüşünün sağlanarak mesaj/konu üzerinde sağlıklı iletişimi sağlamaktır. Sağlıklı kurulan iletişim, şiddet eğilimi olan kişinin tutumunu da değiştirebilecektir.

İletişim becerilerinde kuramcılar farklı kapsamlarda, farklı ortamlarda ve farklı gruplar arasında değerlendirme ve sınıflandırma yapabilmektedir. Çalışma kapsamında öne çıkan husus sağlık çalışanları bağlamında kişilerarası iletişim yaklaşımı olduğundan, iletişimde empati kavramının da önemli olduğunun ifade edildiği yaklaşımlar mevcuttur. Empati, karşımızdaki kişinin ne hissettiğini iletişim süreçlerinde yaşayabilme ve bu konuda gerekirse ona hak verme olarak tanımlanabilir (11). Objektif bir yaklaşım gerektiren

empatik iletişimde, karşısındakine destek duygusu gelişirken, üzüntü ve kedere ortak duygu gelişmez. Bu durum empati gösteren kişi için anlayış gerektiren bir süreç olurken, karşısındaki kişinin duygu, durum ve davranışlarında değişikliğe etki edebilecektir. Dolayısıyla olası şiddet dürtüsünü değiştirmek adına faydalı bir süreç yönetimi geliştirmiş olacaktır. Fakat sorunların çözümünde sağlık çalışanları adına meslek etiği, hastalar açısından ise hasta etiği kavramlarına uyulması, empati yaklaşımına göre sorunların çözümünde daha etkin bir yaklaşım olabilecektir.

İletişimi etkileyen özellikle de sağlıklı bir iletişimi etkileyen faktörlerden bir veya birkaçının meydana gelmesi beklenen ve istenen etkinin görülmesini etkileyecektir. Doğru iletişime giden yol, dilin etkili ve doğru kullanılmasıyla mümkün olacaktır. Yaşamın her alanında, her sektörde olduğu gibi, sağlık sektöründe de kişilerarası iletişimde dilin çok önemli bir yeri bulunmaktadır.

İletişimin genel anlamda insan ilişkilerini düzenleme etkisi ve olumlu yönde çözümleme yöntemi olarak kullanılması, özellikle sağlık eğitimi alanlar için ders içeriği olarak da planlanması önerilmiştir. Bu açıdan çeşitli düzenlemeler yapılmaya çalışılmışsa da genele henüz yayılmadığı da görülmüştür. Üniversitelerdeki tıp eğitimine dahil edilmesi düşünülen "iletişim becerileri" derslerinin de etkili olabileceğini ileri süren Liu ve diğerleri (12) gibi Nilsen ve Malterud (13)'da sağlık çalışanlarına yönelik eğitimin başarılı olacağı konusunda çalışmalar yürütmüşlerdir. "Systematic Text Condensation" olarak tanımladıkları yöntemi hekimlere uygulayan araştırmacılar, sağlık çalışanlarının hastaların duygularını daha iyi anlayabildiklerini ortaya koymuşlardır. Bu yaklaşım modelinin temel alınması ve geliştirilmesi ile birlikte sağlık çalışanı - hasta ilişkisi arasındaki iletişimin daha başarılı sonuçlar elde edilmesine yarayacağı değerlendirilmektedir.

Toplumun tüm bireylerinin benzer profesyonel iletişim eğitimlerine tabi tutulamayacağı gerçeği de göz önüne alındığında, en azından yapılandırmanın tek taraflı olarak başarılı bir şekilde yürütülmesi

sorunun çözümünde önemli bir adım olacağı da kabul edilmektedir.

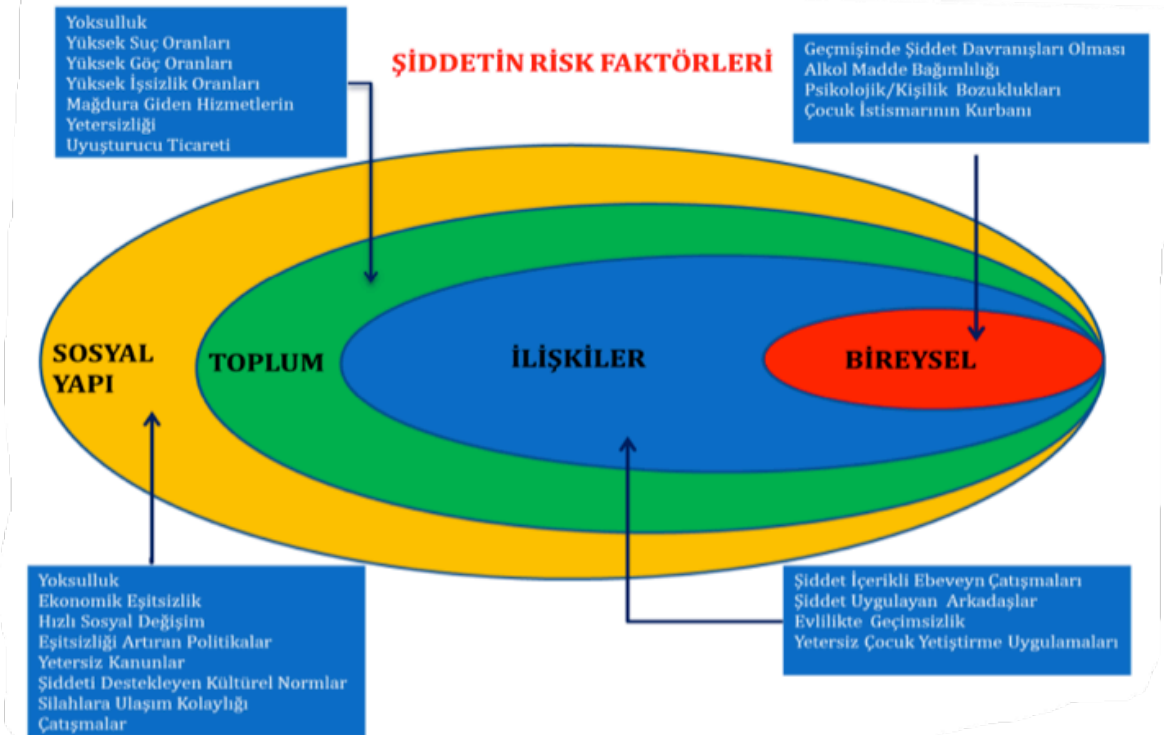
## 2. Sağlık Çalışanlarına Şiddet ve İletişim

Dünya Sağlık Örgütü, “Sağlıkta Şiddet” başlığının tanımını yaparken “Hasta, hasta yakınları veya diğer herhangi bir bireyden gelen, sağlık çalışanı için risk oluşturan; sözel tehdit, fiziksel saldırı ve cinsel saldırıdan oluşan durum” tanımını kullanmaktadır. Bu tanımda da dikkat edilecek olunursa şiddetin tek taraflı olduğu ön kabulü öne çıkmaktadır. Kamu algısı olarak da bakıldığında özellikle fiziki şiddete maruz kalan tarafın genellikle sağlık çalışanları olduğu anlaşılabilmektedir. Medyaya yansıyan haberler ve içeriklerde neredeyse tamamına yakınında sağlık çalışanlarının şiddete maruz kaldığı yönünde olmuştur. Bu bağlamda şiddetin risk faktörleri de nedensellik bakımından belirlenmiştir (Şekil 1).

Sağlık çalışanlarına karşı uygulanan şiddetin, iletişimsizlik temelinde olduğu etkenlerden bir tanesidir. Diğer çevresel ve üst-dışsal etkenler

çalışmanın ilerleyen bölümlerinde ifade edilmiştir. Öncelikli olarak şiddet unsurunun yaşandığı ve iki taraflı görünen “çatışmanın” tarafları arasındaki iletişimsizliğe vurgu yapmak yerinde olacaktır. Hasta veya hasta yakını ile sağlık çalışanı arasındaki iletişimi etkileyen faktörleri Cooper ve Swanson (14), yedi başlıkta belirlemişlerdir:

- Hasta/hasta yakını ile sağlık çalışanının ruhsal durumları,
- Hasta/hasta yakını ile sağlık çalışanının iletişiminin gerçekleştiği fiziki ortam,
- Hasta/hasta yakını ile sağlık çalışanının iletişim yetenekleri,
- Toplumun hasta-hekim ilişkisine bakışı,
- Hekim başına düşen hasta oranı,
- Hasta/hasta yakını ile sağlık çalışanının eğitim durumları ve bunun etkileri,
- Sağlık çalışanları tarafından kullanılan tıbbi terminoloji.



Şekil 1. Şiddetin risk faktörleri

Bu faktörlerden bir veya birkaçının oluşması durumunda, hasta/hasta yakını ile sağlık çalışanı arasında istenilen iletişim sağlanamamış ve şiddet meydana gelmiş olabilecektir. Giderek artan bir başka görüşe göre ise sağlık çalışanlarının, tıp eğitimleri sırasında insan odaklı iletişim eğitimlerinin ya hiç alınmamış ya da yetersiz alınmış olmaları yönündedir. Bu durum sağlık çalışanlarının meydana gelebilecek olası kriz durumlarını yönetemedikleri sonucunu ortaya çıkaracaktır. Bu amaçla ortaya çıkan ve iletişimin önemli bir kısmını oluşturan sağlık iletişimi, “Sağlık konusuyla ilgili kişi veya grupların, hedef gruplara yönelik gerçekleştirdiği iletişim şekli” olarak tanımlanmıştır (15).

Sağlık iletişiminin hasta/hasta yakını ile sağlık çalışanı arasında gerçekleştiği düşünüldüğünde, şiddet eylemlerine yönelik çeşitli araştırmalar da ortaya çıkmıştır. Yapılan araştırmalar sağlık çalışanlarına gösterilen şiddetin türleri; hasta yakınları tarafından sözel, hastalar tarafından fiziki şiddet olarak gerçekleştiği tespit edilmiştir (16). Dünya Sağlık Örgütü de sağlık çalışanlarının diğer meslek grupları arasında şiddete uğrama oranının en yüksek meslek grubu olduğunu açıklamıştır. Yine DSÖ’nün araştırmasına göre sağlık çalışanlarının %8 ila %38’i meslekleri süresince en az bir defa şiddete maruz kalmışlardır (17).

Sağlık çalışanlarına şiddetin önlenmesi konusunda Türkiye’de de Sağlık Bakanlığı tarafından Beyaz Kod uygulaması başlatılmıştır. Sağlık Bakanlığı tarafından;

“663 sayılı Sağlık Bakanlığı ve Bağlı Kuruluşlarının Teşkilat ve Görevleri Hakkında Kanun Hükmünde Kararname’nin 54 üncü maddesi çerçevesinde sağlık hizmeti sunumu sırasında veya bu görevlerden dolayı personele karşı işlenen suçlar sebebiyle ceza hukuku kapsamında yürütülmekte olan işlemler ve davaların kayıt altına alındığı ve takibinin yapıldığı bir uygulama” olarak tanımlanan Beyaz Kod uygulaması, Sağlık Bakanlığının yayımladığı kullanım kılavuzu (18) değerlendirildiğinde bir çeşit istatistik elde etme ve veri toplama sisteminden öteye geçememiştir. Yönetmeliğe göre eylemin gerçekleşmesinden sonra ilgili sağlık çalışanına gerekli hukuki ve psikolojik destek verilecek, sonrasında elde edilen veriler şiddetin önlenmesinde kullanılacaktır.

Beyaz Kod’a bildirilen verilerde yıllara göre sürekli bir artış olduğu çok açık bir şekilde görülmektedir. 2012 yılının ilk 6 aylık döneminde 5.050 şiddet eylemi sisteme rapor edilmişken, 2017’ye geldiğinde bu sayının %168 artarak 13.045’e yükseldiği görülmüştür. Beyaz Kod uygulamasının ilk altı yıllık döneminde ise toplam 68.375 sağlık çalışanı şiddete uğramıştır (19). Sadece Sağlık Bakanlığı’nın uygulamasına girilen kayıtların esas alındığı verilere, gayri resmi vakalar da eklendiği düşünüldüğünde, şiddet olaylarının her geçen gün arttığı görülmektedir.

2018 yılında Beyaz Kod olarak bildirilen ve sağlık çalışanlarına uygulanan şiddetin nedenleri ve dağılımı da Esen ve Aykal (20) tarafından yapılan bir araştırmada şu şekilde belirlenmiştir (Tablo 1).

**Tablo 1.** Şiddet Uygulama Nedenleri

Şiddet Uygulama Nedenleri	Sayı	Yüzde
Hasta veya Yakınlarının Yanlış Tutum ve Davranışları	81	55,9
Sıra Beklemeyi Reddetme	25	17,2
Randevusuz Muayene Talebi	11	7,6
Hasta Tarafından İlaç Yazdırma Talebi	6	4,1
Ziyaret veya Refakat İhlali	6	4,1
Diğer	6	4,1
Hasta veya Yakınının Rapor Talebi	5	3,4
Mahremiyet veya İnançsal Nedenler	5	3,4
Toplam	145	100,00



### 3. Şiddet ve Medya

Slavoj Zizek, şiddet konusunda kapsamlı çalışmalar yapmış, şiddetin insan toplumlarının doğal bir parçası olduğunu ve onu tamamen ortadan kaldırmaya yönelik girişimlerin başarısızlığa mahkûm olduğunu öne sürmektedir. Bunun yerine, bazı şiddet biçimlerinin belirli koşullarda gerekli ve haklı olabileceğini kabul ederken, görevin gereksiz ve haksız şiddeti en aza indirmek olduğunu ifade etmiştir. Zizek (21), sosyal sistemlerin ve yapıların örgütlenme ve sürdürülme biçiminin doğasında var olan şiddet olarak tanımladığı sembolik şiddet de dâhil olmak üzere farklı şiddet türleri olduğunu savunmaktadır. Bu tür şiddet genellikle gizli ve görünmezdir ve genellikle sosyal normlar ve kurumlar tarafından meşrulaştırıldığı için mücadele edilmesi en zor olanıdır. Bourdieu, sembolik şiddet kavramıyla toplumda belirli sembollerin ve sembolik pratikler aracılığıyla yapılan zorlama ve baskıyı ifade eder. Bourdieu'ya göre, sembolik şiddet, bireyleri veya grupları toplumsal düzenin kabul ettiği normlara ve değerlere uygun davranmaya zorlar. Bu şiddet biçimi, doğrudan fiziksel veya açıkça zorlayıcı olmayabilir, ancak sembolik olarak güçlü olan grupların veya kurumların belirli davranışları ve normları dayatması yoluyla gerçekleşebilir. Sembolik şiddet, toplumda belirli grupların veya sınıfların egemenliklerini ve üstünlüklerini korumak amacıyla kullanılan bir mekanizmadır. Bourdieu'ya göre, sembolik sermaye ve sembolik şiddet, toplumda güç ilişkilerinin anlaşılmasında önemli bir rol oynar. Sembolik sermaye, toplumsal hiyerarşileri ve eşitsizlikleri sürdüren ve güç dengesini etkileyen bir faktördür. Sembolik şiddet ise bu eşitsizlikleri ve güç dengesini sürdürmek için kullanılan bir mekanizmadır (22). Bununla birlikte insan doğasında, görünürde hiçbir sebep veya gerekçe olmaksızın şiddet eylemleri işleme eğilimi olan "radikal bir kötülük" ifade ederken, bu tür şiddetin ortadan kaldırılamayacağını, ancak yalnızca siyasi güç ve sosyal kurumların kullanılması yoluyla kontrol altında tutulabileceğinin de altını çizen Zizek, şiddetli direniş eylemlerinin baskıcı

sistemlere meşru bir tepki olarak görülebileceğini öne sürer ve şiddetsizliğin her zaman siyasi değişime ulaşmanın en iyi yolu olduğu fikrini eleştirmektedir. Şiddetli ve şiddetsiz direniş arasındaki seçimin her zaman net olmadığına ve şiddetin tek geçerli seçenek olduğu durumlar olduğuna inanan Zizek (23), şiddeti tamamen ortadan kaldırılamayan, ancak siyasi güç ve sosyal kurumların kullanılmasıyla en aza indirilebilen ve şiddetli direniş eylemlerinin baskıcı sistemlere meşru bir tepki olarak görülebileceği karmaşık ve çok yönlü bir olgu olarak görmektedir.

Türkiye'de sağlık çalışanlarına yönelik şiddet, çeşitli faktörlerin neden olabileceği karmaşık bir konudur. Siyasi söylem, sağlık çalışanlarına ve sağlık sistemlerine yönelik kamuoyu algılarını ve tutumlarını şekillendirmede önemli rol oynarken, sağlık çalışanlarına yönelik şiddetin tek nedeni olduğunu söylemek doğru değildir. Yoksulluk, eğitim eksikliği, sosyal eşitsizlik, ruh sağlığı sorunları ve diğer faktörler de sağlık çalışanlarına yönelik şiddeti etkilemektedir.

Türkiye'de sağlık çalışanları, COVID-19 salgını ile mücadelede ön saflarda yer almış ve bazı kişiler tarafından sözlü ve fiziksel tacize maruz kalmıştır. Bu sadece Türkiye'ye özgü değil ve dünya çapında sağlık çalışanları pandemi sürecinde şiddete maruz kalmıştır. Bu şiddetin nedenleri yanlış bilgilendirme, korku ve hayal kırıklığından kişisel ve zihinsel sağlık sorunlarına kadar değişebilir. Şiddet olaylarının artışı medyanın da etkisinin olduğu, yapılan haberlerin sunuş biçiminin, haber dilinin, kullanılan görsellerin şiddeti körüklediği öne sürülen iddialar arasındadır. Bu amaçla 2012 yılında kurulan Türkiye Büyük Millet Meclisi (TBMM) Sağlık Çalışanlarına Yönelik Artan Şiddet Olaylarının Araştırılarak Alınması Gereken Önlemlerin Belirlenmesi Amacıyla Kurulan Meclis Araştırma Komisyonunun 2013 yılında tamamladığı raporunda, şiddet haberlerine medyada sıkça yer verilmesinin, sağlık çalışanlarının itibarını zedelediği, toplumu şiddete karşı duyarsız hale getirdiği ve hatta şiddet eyleminde bulunan saldırgan veya saldırganlara karşı hoşgörü duygusunu arttırdığı



ifade edilmiştir (24).

Sağlık çalışanlarına şiddet ve şiddetin teşviki temelinde medyanın sorumlu tutulduğu raporu hazırlayan siyasiler de şiddet unsurunun artışından sorumlu tutulmaktadır. Bu yaklaşıma göre sağlık politikalarının belirlendiği, ilgili yasaların ve yönetmeliklerin çıkarıldığı yer olan Mecliste yaşanan siyasi gerilimler, siyasal taraflılık bağlamında halk nezdinde karşılık bulabilmektedir. Yukarıda bahsi geçen ve Meclis tarafından hazırlanan araştırma raporu, 2012 yılında Gaziantep Avukat Cengiz Gökçek Devlet Hastanesinde görevli Dr. Ersin Arslan'ın bir hasta yakını tarafından bıçaklanarak öldürülmesi üzerine gelen tepkiler nedeniyle kurulmuş olması da önemli bir husustur. Bu olayın iki önemli noktası bulunmaktadır:

Birincisi olayın faili olan kişinin ekonomik olarak kötü durumda olması ve olayın sosyo-ekonomik etkilerinin olmasıdır. Bu durum yine Türkiye'deki ekonomik istikrarsızlıkla ilişkilendirilmiştir. Sağlık Emekçileri Sendikası (SES) tarafından hazırlanan raporda bu olaya vurgu yapılmış, failin ifadelerinin yoksulluk ve işsizlikle değerlendirilmesi istenmiştir (25).

İkincisi ise olayın öncesinde siyasilerin tepki çeken söylemlerinin şiddet olayının yaşanmasına teşvik edici olduğudur.

Sağlık çalışanlarına uygulanan şiddetin artışının temel nedeninin yine politik bir unsur olduğu öne sürülmektedir. Açıkçası yapılan araştırmalar, şiddet sayısının uygulanan programların yanlış uygulanmasından sonra artış göstermesi bu iddiayı güçlü nedenlere bağlamaktadır. Sağlık çalışanlarının 24 saat esasına dayalı hizmet vermesi, personel yetersizliği ve bu nedenle hastaların bekleme süre ve sayılarının da artması, buna bağlı olarak da sabırsızlık göstermeleri, yetersiz ekipman, donanım, cihaz ve yatak gibi donanımlar, özellikle devlet hastanelerinde oluşan kalabalıklar, güvenlik önlemlerinin yetersiz olması gibi birçok etkenin şiddeti meydana getirecek ortamı oluşturduğu söylenebilir (26).

Sağlık sisteminde yapılan değişikliklerin 'Eski Türkiye' - 'Yeni Türkiye' söylemine dönüşmesi,

sağlık çalışanlarına karşı geliştirilen söylem ve medya yansımaları, yeni medya ortamlarında da kendisini göstermiştir. Sokak röportajlarının çok sık gerçekleştirildiği günümüzde, internette yayımlanan bir röportaj, vatandaşın politik söylemlerden nasıl etkilendiğini ve nasıl çıkarımlarda bulunduğunu gösteren çarpıcı bir örnek olmuştur. Politik tercihini Adalet ve Kalkınma Partisinden yana olarak açıklayan vatandaş, ülkenin ekonomik durumunun iyi olduğunu vurgularken 'Eski-Yeni Türkiye' karşılaştırmasını sağlık sistemi üzerinden yapmıştır. "Eskiden hastaneye gittiğimizde paramız olmadığı için eşyalarımızı haczediyorlardı. Şimdi beğenmezsek gerekirse sağlıkçıyı dövüyoruz. Bizim en büyük zenginliğimiz bu" (27) ifadeleri kamuoyu tarafından da yoğun tepki çekmiştir. Üstelik bu örnek münferit olmayıp 14 Mayıs 2023 Cumhurbaşkanlığı ve Meclis seçimleri öncesinde de siyasi tercih olarak etkisini göstermiştir. Yapılan bir başka sokak röportajında kadın vatandaş sağlık sistemini olumlarken şu cümleleri kurmuştu: "Şu an biz doktor dövüyoruz. O rahatlıktayız, daha bunun ötesi yok." Kullanılan ifadeler hakkında suç duyurusunda bulunulmasının ardından ise mahkeme tarafından takipsizlik kararı verilmesi de hem kamuoyunda tepkiyle karşılanmış hem de benzer ifadelerin kullanılmasının önündeki engeli de bir anlamda kaldırarak normalleştirilmiştir (28).

Bu durum göstermektedir ki, sağlıkta şiddetin tarafları sadece sağlık çalışanları ile hasta/hasta yakınları değildir. Hasta ve hasta yakınlarının içerisinde buldukları sosyo-ekonomik durum, politik tercihler, maruz kaldıkları söylemler gibi birçok etken adeta yönlendirici konumundadır. Sağlık çalışanları açısından değerlendirildiğinde ise mevcut fiziki çalışma ortamı, uyguladıkları kanunlar, güvenlik tedbirleri, çalışma süreleri gibi uymak zorunda oldukları ellerinde olmayan şartlar sayılırken, kişisel olarak alacakları tedbirler ile iletişim becerilerini geliştirmek, sosyal çevre ve kültürel etkilere göre hareket etmek, tıbbi terminolojinin dikkatli kullanımı gibi nedenler sayılabilir.

## SONUÇ

İletişim, çatışmaları önlemek ve çözmek için güçlü bir araç olabilir, ancak şiddeti kışkırtmak için de kullanılabilir. Açık, saygılı ve etkili iletişim, potansiyel olarak şiddet içeren durumların şiddetini azaltmaya ve anlayış ve iş birliğini geliştirmeye yardımcı olabilir. Öte yandan, nefret söylemi, saldırgan dil ve yanlış bilgilendirme şiddet kültürünü etkileyerek ve çatışmaların barışçıl yollarla çözülmesini zorlaştırabilir. Sonuç olarak, iletişimin şekli, bir toplumdaki şiddet seviyesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilmektedir.

Politikacıların söyleminin bir toplumdaki şiddet düzeyi üzerinde önemli bir etkisi olabilirken, kullandıkları dil, farklı insan gruplarına, meselelere ve çatışmalara karşı kamu algılarını ve tutumlarını şekillendirebilmektedir. Retorik, çatışmaları barışçıl bir şekilde çözmeyi ve şiddet olasılığını artırmayı zorlaştıran düşmanlık ve güvensizlik kültürüne etki edebilir. Nefret söylemini kullanan, şiddete neden olan veya ayrımcılığı teşvik eden politikacılar, bireyler veya gruplar tarafından şiddet eylemlerini doğrudan kışkırtabilirler. Siyasi söylemin şiddetin tek nedeni olmadığını, ancak katkıda bulunan bir faktör olabileceğini belirtmek önemlidir. Ayrıca, bölücü veya tartışmalı olan tüm siyasi söylemlerin şiddete yol açmadığını da belirtmek gerekir. İnsanların siyasi söylemi yorumlama ve yanıt verme şekli değişebilir ve bağlamı, kitleyi ve durumu etkileyen diğer faktörleri dikkate almak önemlidir. Ancak şiddetin, gelir/ekonomik ve eğitim açısından dezavantajlılar, sosyal eşitsizlik, akıl sağlığı sorunları ve diğerleri gibi çeşitli faktörlerin neden olabileceği karmaşık bir sorun olduğunu belirtmek faydalı olacaktır. Özellikle kişilerarası sorunların çözümünde iletişim becerilerinin kullanımı, sorunun çözülmesine veya en azından çözüm için adım atılmasına etki edecektir.

Medyaya yansıyan söylem, sağlık çalışanlarına yönelik şiddetin düzeyi üzerinde etkili olabilmektedir. Medyada sağlık çalışanlarının ve sağlık sistemlerinin tasvir edilme şekli, halkın onlara yönelik algılarını

ve tutumlarını şekillendirebilmektedir. Sağlık çalışanlarını kahraman olarak tasvir eden ve karşılaştıkları zorluklara dair doğru ve bilgilendirici haberler sunan medya, sağlık çalışanlarına yönelik halk desteği oluşturmaya ve onlara yönelik şiddet olasılığını azaltmaya yardımcı olmaktadır. Bununla birlikte, sağlık çalışanlarını olumsuz bir şekilde tasvir eden veya karşılaştıkları zorlukları sansasyonel hale getiren veya yanlış temsil eden medya, sağlık çalışanlarına karşı bir düşmanlık ve güvensizlik oluşmasına da neden olabilir. Bu, sağlık çalışanlarına karşı onları düşman olarak görebilecek kişi veya grupların şiddet uygulama olasılığını artırabilir. Ayrıca medya, sağlık çalışanlarına yönelik şiddet haberlerini sansasyonel veya sansürlü bir şekilde aktardığında, şiddet kültürüne de etkileyebilmektedir. Bunun nedeni, taklitçi davranışlara ilham verebilmesi ve ayrıca sağlık çalışanları arasında korku ve güvensizliği artırabilmesidir. Medyanın sağlık çalışanlarına yönelik şiddetin tek nedeni olmadığını, ancak katkıda bulunan bir faktör olabileceğini çalışmadan da anlaşılmaktadır.

Bunun için olayı çok yönlü ele almak, çok yönlü tedbirler almak ve uygulamak gerekmektedir. Sağlık çalışanları açısından değerlendirildiğinde, tıp eğitimi ile birlikte özellikle doktor ve hemşirelere insan ilişkileri, kişisel gelişim gibi eğitim ve derslerin verilmesi, sonrasında işyerleri üzerinden hizmet içi eğitimlerin düzenlenmesi ve bunun süreklilik kazanması sağlık çalışanları tarafından alınacak tedbirler olarak değerlendirilebilir. Hasta ve hasta yakınları için ise kurumsal tedbirler alınamayacağından, okul, işyerleri gibi temas ettikleri ortamlarda farkındalık çalışmaları yapılabileceği düşünülmektedir. Bunun dışında her iki tarafı da etkileyecek olan üst-dışsal olarak tabir ettiğimiz politik-siyasal tedbirlerin etkisi önemlidir. Sağlık çalışanlarının çalışma şart ve koşullarının yeniden ele alınması, medyada yer alan söylemlerle sağlık çalışanlarının itibarlarının zedelenmemesine dikkat edilmesi, siyasal polemiklerle harcanmamasına dikkat edilmesi gerekmektedir.

Özellikle COVID-19 salgınının da etkileriyle oldukça yoğun mesai harcayan sağlık çalışanlarının,

özellikle ekonomik olarak karşılıklarını alamadıkları ve buna karşılık artan şiddet olayları nedeniyle yurt dışına gitme kararı almaları da olayın bir başka neticesi olarak karşımıza çıkmaktadır. Sağlık çalışanlarının bu kararı almalarındaki en önemli etken her iki unsur da (ekonomi ve şiddet) politik temellidir. Söylemlerde yer alan şiddetin kimi kesimlerce zihinsel kodlamasının yapılması ve sağlık çalışanına şiddet uygulanmasının “haklı” kabul edilmesiyle birlikte, mesleğinin “itibarsızlaştırıldığını” düşünen sağlık çalışanlarının görevlerini bıraktıkları, başka ülkelere gitmek için girişimlerde buldukları da medyaya yansıyan haberlerdendir. 2022 yılı üniversite

yerleştirme sonuçlarına göre özellikle tıp alanında yapılan tercihlerde gerileme olduğu da toplumsal tercihlerin sonuçlarına bir örnek olarak karşımıza çıkmaktadır.

Gerek sağlık çalışanları ile hasta/hasta yakınları, gerekse diğer faktörler bağlamında değerlendirildiğinde, şiddeti meydana getiren unsurların iletişim ve söylem özelinde geliştiği, bu durumun düzeltilmesi için iletişim becerilerinin geliştirilmesi ve kasti söylemlerden kaçınılması gerektiği, iletişim biliminin alt başlıklarının iyi anlaşılması ve uygulanması gerektiği görülmektedir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. World report on violence and health: Summary. Violence: A global public health problem. (2002). [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42512/9241545623\\_eng.pdf;jsessionid=B91026A29B09CC24A9F5687F98D5C080?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42512/9241545623_eng.pdf;jsessionid=B91026A29B09CC24A9F5687F98D5C080?sequence=1), Erişim tarihi: 2 Kasım 2022.
2. Artun Ü. Genişletilmiş bir şiddet tipolojisi. Cogito, 1996; 6(7), 29-36.
3. Polat O. Şiddet. Marmara Üniversitesi Hukuk Fakültesi Hukuk Araştırmaları Dergisi, 2016; 1(1), 15-34.
4. Annagür B. Sağlık çalışanlarına yönelik şiddet: risk faktörleri, etkileri, değerlendirilmesi ve önlenmesi. Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar, 2010; 2(2), 161-73.
5. Ercan P. Sağlık çalışanlarına yönelik şiddeti anlamaya çalışmak ve sağlık çalışanlarına yönelik şiddeti önlemede iletişim becerileri. Anadolu üniversitesi iletişim bilimleri fakültesi, V. Sağlık iletişimi sempozyumu, 7-8 Kasım 2019, Eskişehir.
6. Giddens A. Sosyoloji. 2005; Ankara: Ayraç Yayınevi.
7. Book AS. The relationship between testosterone and aggression: A meta-analysis. Aggression and Violent Behavior, 2001; V.6 (6), 579-99.
8. Anderson CA, Dill KE. Video games and aggressive thoughts, feelings, and behavior in the laboratory and in life. J Person Social Psychol 2000; 78(4), 772-90.

9. Fromm E. Freud Düşüncesinin Büyüklüğü ve Sınırları. (çev. A.Artan), 1981; İstanbul: Dilek matbaası.
10. Yüncü F. Sağlık işletmelerinde iletişim. 2000; Ankara: Yüncü Yayınları.
11. Tutar H, Yılmaz MK. Genel İletişim: Kavramlar ve Modeller. 2003; Ankara: Nobel Yayınları.
12. Liu Y, Huang Y, Gao H, Cheng X. Communication skills training: adapting to the trends and moving forward. Bioscience trends. 2017; 11(2), 142-7.
13. Nilsen S, Malterud K. What happens when the doctor denies a patient's request? A qualitative interview study among general practitioners in Norway. Scandinavian J Prim Health Care, 2017; 35 (2), 201-7.
14. Cooper C, Swanson N. Workplace Violence in the Health Sector, State of the Art. <https://www.coursehero.com/file/68629854/WVstateartpdf/>, Erişim tarihi: 2 Kasım 2022.
15. Okay A. Sağlık İletişimi. 2009; İstanbul: MediaCat.
16. Büyükbayram A, Okçay H. Sağlık çalışanlarına yönelik şiddeti etkileyen sosyokültürel etmenler. Psikiyatri Hemşireliği Dergisi. 2013; 4(1), 46-53.
17. Preventing Violence Against Health Workers. <https://www.who.int/activities/preventing-violence-against-health-workers#:~:text=Health%20workers%20are%20at%20high,perpetrated%20by%20patients%20and%20visitors>, Erişim tarihi: 2 Kasım 2022.
18. Beyaz Kod Kılavuzu. <https://osmaniye112.saglik.gov.tr/Eklenti/8197/0/beyaz-kod-kilavuzpdf.pdf>, Erişim tarihi: 2 Kasım 2022.
19. Son 6 yılda 68 bin 375 sağlık çalışanı şiddet mağduru oldu. <https://t24.com.tr/haber/son-6-yilda-68-bin-375-saglik-calisan-siddet-magduru-oldu,671357>, Erişim tarihi: 2 Kasım 2022.
20. Esen H, Aykal G. Sağlık kurumlarında yaşanan şiddetin değerlendirilmesi: Eğitim ve araştırma hastanesi örneği. Sağlık Akademisyenleri Dergisi. 2020; C.7 (1), 1-9.
21. Zizek S. Violence - Six Sideways Reflections. 2008; London: Profile.
22. Bourdieu P. Toplum Bilim Sorunları, (Çev. Işık Ergüden), 1996; İstanbul: Kesit Yayıncılık.
23. Zizek S. On Violence and Spirit. Jakobin, 2011; V.3, Summer.
24. Türkiye Büyük Millet Meclisi Sağlık Çalışanlarına Yönelik Artan Şiddet Olaylarının Araştırılarak Alınması Gereken Önlemlerin Belirlenmesi Amacıyla Kurulan Meclis Araştırma Komisyonu Raporu. <https://acikerisim.tbmm.gov.tr/xmlui/bitstream/handle/11543/110/ss454.pdf?sequence=1&isAllowed=y>, Erişim tarihi: 2 Kasım 2022.
25. Sağlık Alanında Yaşanan Şiddet, Nedenleri ve Çözüm Önerilerimiz. <https://ses.org.tr/category/yayr/raporlar/>, Erişim tarihi: 2 Kasım 2022.
26. Önal G. Sağlık Çalışanlarına Yönelik Şiddetin Değerlendirilmesi ve Önlenmesi Hakkında Görüşü. <https://biyoetik.org.tr/gorusler/saglik-calisanlarina-yonelik-siddetin-degerlendirilmesi-ve-onlenmesi-hakkinda-gorusu/>, Erişim Tarihi 3 Mart 2022.
27. AKP'li yurttaştan tepki çeken sözler: Eskiden haciz geliyordu, şimdi sağlıkçı dövüyoruz. <https://www.cumhuriyet.com.tr/turkiye/akpli-yurttastan-tepki-ceken-sozler-eskiden-haciz-geliyordu-simdi-saglikci-dovuyoruz-1897133>, Erişim tarihi: 2 Kasım 2022.
28. Akduman İ. 'Doktor dövüyoruz' diyen AKP'li kadına tepki çeken karar, <https://www.sozcu.com.tr/2023/gundem/doktor-dovuyoruz-diyen-akpli-kadina-tepki-ceken-karar-7687293/>. Erişim tarihi: 24 Mayıs 2023.

# Transfüzyon uygulamalarında doğru endikasyon stratejileri ve hasta kan yönetimi

## Correct indication strategies and patient blood management in transfusion applications

Büşra ACET YİĞİT<sup>1</sup> (ID), Mehtap BOLAT<sup>2</sup> (ID), Mustafa ALTINDIŞ<sup>3</sup> (ID)

### ÖZET

Kliniklerde oldukça sık uygulanan işlemlerden biri olan kan transfüzyonu hayat kurtarıcı bir tedavi yöntemi olmakla birlikte birçok yan etkiyi ve komplikasyonu da içinde barındırmaktadır. Başta eritrosit konsantreleri olmak üzere trombosit konsantrisi ve taze donmuş plazma en çok tercih edilen kan bileşenleridir. Bilinen faydalarının yanı sıra kan transfüzyonlarının yan etkiler meydana getirerek istenmeyen klinik tablolara yol açacağı unutulmamalıdır. Transfüzyon kararlarında doğru endikasyon oldukça önemli bir yere sahiptir. Ayrıca bu kararı alırken hastaya özgü faktörler (yaş, tanı, komorbidite), laboratuvar bulguları (hemoglobün değeri, trombosit sayısı, koagülasyon testleri), koagülopatinin varlığı ve bilinen fizyolojik faktörler (oksijen ihtiyacı ve hemodinamik durum) de dikkate alınmalıdır. Günümüzde transfüzyon için kan kullanım endikasyonları, hasta kan yönetimi projesi ile değişmeye başlamıştır. Hasta kan yönetimi (HKY) uygulamaları ile transfüzyondan tamamen kaçınmak mümkün değildir ancak mevcut tüketim büyük ölçüde azaltılabilecek ve maliyetler aşağı çekilebilecektir. Bu bakımdan HKY uygulamaları ile kan transfüzyonlarının

### ABSTRACT

Blood transfusion, which is one of the most frequently performed procedures in clinics, is a life-saving treatment method, but it also contains many side effects and complications. Especially erythrocyte concentrate, thrombocyte concentrate and fresh frozen plasma are the most preferred blood components. In addition to its known benefits, it should not be forgotten that blood transfusions can cause side effects and cause undesirable clinical pictures. Correct indication is very important in transfusion decisions. In addition, patient-specific factors (age, diagnosis, comorbidity), laboratory findings (Hemoglobin value, platelet count, coagulation tests), presence of coagulopathy and known physiological factors (oxygen requirement and hemodynamic status) should also be taken into account when making this decision. Indications for use of blood for transfusion started to change with the patient blood management project. It is not possible to completely avoid transfusion with patient blood management (PBM) applications, but the current consumption can be greatly reduced and costs can be reduced side effects can be prevented

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İbni Sina Hastanesi, Hemovijilans Birimi, Ankara

<sup>2</sup>Sakarya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Hemovijilans Birimi, Sakarya

<sup>3</sup>Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., Sakarya



İletişim / Corresponding Author : Mehtap BOLAT

Sakarya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hemovijilans Birimi 5. Kat Adapazarı / Sakarya - Türkiye

E-posta / E-mail : mehtapbolat54@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 20.07.2022

Kabul Tarihi / Accepted : 22.05.2023

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.65475

Acet Yiğit B, Bolat M, Altındış M. Transfüzyon uygulamalarında doğru endikasyon stratejileri ve hasta kan yönetimi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(3): 419 - 426

yan etkileri önlenabilir ve önceden var olan ya da sonradan gelişebilecek anemi riski en aza indirilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Kan bileşenleri, transfüzyon endikasyonları, kan bileşenleri transfüzyonu, hasta kan yönetimi

and the risk of pre-existing or developing anemia can be minimized.

**Key Words:** Blood products, transfusion indications, blood components transfusion, patient blood management

## GİRİŞ

Kan, farklı fonksiyonlara sahip kendine özgü yapılardan oluşmuş canlı bir dokudur. Kan transfüzyonu, kan ve kan bileşenlerinin perioperatif biçimde verilmesi ve neredeyse organ transplantasyonu olarak tanımlayabileceğimiz hayati bir işlemdir. Sadece hastada eksik görülen bileşenler yerine konulmalı ve gerekmedikçe kesinlikle transfüzyon yapılmamalıdır (1). Gereksiz transfüzyonların önüne geçmek amacıyla, hastaların sağkalım durumları, yoğun bakım kalış süreleri ve oluşan yan etki öykülerini inceleyen çeşitli çalışmalar yapılmıştır (2). Tıbbi literatürde kan ve kan bileşenlerinin doğru amaçla kullanımına ilişkin tartışmalar bulunmaktadır. Kan ve kan bileşenleri kullanım endikasyonlarını araştıran klinik çalışmalar, transfüzyonu hemoglobin (Hb) değerlerinin daha düşük olduğu durumlarda gerçekleştirmenin yararlı olduğunu göstermektedir (3). Transfüzyona karar vermeden önce avantaj ve dezavantajlar bakımından doğru bir tarama gereklidir (1). Kan transfüzyonu, gelişmiş ülkelerin sıkça başvurduğu en yaygın klinik prosedürlerinden biri olmasına rağmen aynı zamanda uygunsuz kullanımı ile de önemli bir risk unsurdur. Kan ve kan bileşenleri transfüzyonu girişimlerine alışılmadık dışında farklı bir yaklaşım gereksinimi sonucunda “Hasta Kan Yönetimi (HKY)” projesi doğmuştur (4). İlk kez 2007 yılında kullanılmaya başlanan “hasta sonucunu iyileştirmek amacıyla Hb konsantrasyonunu korumak, hemostazı optimize

etmek ve kan kaybını en aza indirmek için tasarlanmış kanıt dayalı tıbbi ve cerrahi kavramların zamanında uygulanması” anlamına gelen HKY projesinin aynı zamanda hasta güvenliğini ve tedavi sürecinin kalitesini arttıracak, sonuçları iyileştireceğini, transfüzyonda kısıtlayıcı bir yol izleyerek maliyetleri en aza indirgeyeceğini ve hastanede yatış süresini gözle görülür düzeyde azaltacağını gösteren çok sayıda güncel literatür bulunmaktadır. HKY birçok gelişmiş ülkede giderek artan şekilde bir bakım standardı olarak tanınmış ve uygulanıyor olmasına rağmen alışlagelmiş transfüzyon stratejilerinden olumsuz etkilenmektedir. Sözelimi %60’ın üzerindeki olguda transfüze edilmesi planlanan ve istemi yapılmış kan bileşenleri kullanılmamaktadır. Kurumunda hasta kan yönetimi uygulamak isteyen klinisyenler için ilk adım ameliyat öncesi hemoglobin düzeyi, anemi prevalansını eritrosit konsantrasyonu, taze donmuş plazma ve trombosit konsantrasyonu transfüzyonları açısından analiz etmek olmalıdır. Bu veriler, transfüzyon kararı almada rol oynayan temel unsurlardır ve aynı zamanda bu tür analizler, potansiyel klinik yararların ve maliyet tasarruflarının tahmin edilmesine de katkı sağlamaktadır. Anestezistler, cerrahlar, yoğun bakım uzmanları ve hematologların kısıtlayıcı transfüzyon uygulamaları konusunda hemfikir olması, ortak bir gayretle gelişmiş pıhtılaşma izleme ve tedavi algoritmalarını tanıtmaları ve erken anemi tanı ve tedavisi, atılması gereken diğer adımlardır. Bu adımlar doğrultusunda Almanya’da birinci basamak bir sağlık kuruluşunda

HKY projesi öncesi ve sonrası kan bileşeni transfüzyon ihtiyaçları kıyaslanmış ve yıllık yaklaşık olarak 1.500 ünite (%55) civarı bir düşüş gözlemlenmiştir (5,6). Almanya'nın yanı sıra ABD, Avustralya, Hollanda ve Avusturya'daki merkezlerde HKY projesi şuan bir bakım standardı olarak uygulanmaktadır. HKY'nin ülkemizde de etkili bir şekilde uygulanabilmesi için bu ülkelerin deneyim ve stratejilerinden yararlanılabilir.

## HASTA KAN YÖNETİMİ

Hasta adına en uygun tedavi modelini amaçlayan, doğru zaman, doğru bileşen, doğru hasta ve doğru neden ilkelerini benimseyen HKY projesi, 2010 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından tüm üye devletlere öneri olarak sunulmuştur (7). Hasta kan yönetimi projesi ile beraber bileşen odaklı olan anlayış hastanın kendi kanının korunması yönünde bir eğilim göstermiştir. Hasta sonuçlarını olumsuz yönde etkileyen faktörlerin başında anemi, kanama, transfüzyon gelmekte olup HKY, hastada mevcut olan kırmızı küre miktarını uygun hale getirerek kan kaybını minimum düzeye indirmeyi ve transfüzyon uygulamalarını kısıtlayarak hasta sonuçlarını mümkün olduğunca iyileştirmeyi hedeflemektedir (8). 2005 yılında Fransa'daki hastanelerde uygulanan kan koruma stratejileri, yerel uygulamayı değiştirerek, genel transfüzyon kullanımını %56 ve otolog kan bileşenlerinin israfını da %50 oranında azaltmıştır (9). Frankfurt'ta düzenlenen Konsensüs Konferansında; hasta odaklı olan ve hastanın mevcut kanını optimize etmeyi hedefleyen HKY uygulamasının stratejileri belirlenmiş ve aynı zamanda HKY kapsamında hasta sonuçlarını iyileştirmek, maliyetleri aşağı çekmek ve transfüzyon miktarında düşüşü sağlamak adına ek çalışmalara da gereksinim olduğu belirtilmiştir (10).

Ülkemizde de "Kan Transfüzyon Yönetim Sisteminin Geliştirilmesi için Teknik Yardım Projesi" kapsamında bilgilendirme faaliyetleri, farkındalık oluşturma çalışmaları ve HKY rehberleri hazırlanarak kullanıma geçilmiştir (6). Aynı zamanda Türkiye Kan Merkezleri Transfüzyon Derneği tarafından yapılan kongre ve kurs çalışmaları ile transfüzyon güvenliği

ve HKY kapsamında faaliyetler sürdürülmektedir (6). Projenin amaçları kapsamında şu maddeler yer almaktadır;

- Allojenik kan transfüzyonlarında kısıtlayıcı bir yol izlemek adına ve kanın seviyesini arttırmanın önemi açısından hekimlere gerekli eğitimler vermek,
- Hastada var olan aneminin planlanmış operasyon öncesi düzeltilmesini sağlamak için operasyondan önce erken girişimler planlanmasını sağlamak,
- HKY rehberlerinin pratikte kullanımı ve uygun endikasyon doğrultusunda planlanmış transfüzyonları yönlendirme amacıyla gerekli elektronik karar destek sistemleri sağlamak.
- Mevcut transfüzyon uygulamalarını takip etmek ve geliştirme alanlarını belirleyebilmek için transfüzyon veri analizi sistemi oluşturmak,
- Kurumlar arasında sağlıklı rekabeti teşvik etmek için transfüzyon oranları ve hasta sonuçları hakkındaki verilerin raporlanmasına odaklanarak hekimler arasında bir model değişimini sağlamak,
- Geri ödeme sistemi, erken anemi tespiti ve tedavisi dahil olmak üzere HKY önlemlerinin kullanımı desteklemek (6).

## HKY KAPSAMINDA KLİNİK TRANSFÜZYON UYGULAMALARINDA DOĞRU ENDİKASYON STRATEJİLERİ

### 1. Tam kan transfüzyonu

Tam kullanımı ile ilgili özellikle askeri ortamlarda, kardiyak cerrahi, yanıklar ve masif transfüzyon gibi durumlar değerlendirilebilmekle birlikte en doğrusu kullanımının klinik çalışmalarla, kan bileşenlerinin mevcut olmadığı durumlarla ve hayatı tehdit eden kanamalarla sınırlanmasıdır (6).

### 2. Eritrosit konsantresi transfüzyonu

Eritrosit konsantresi transfüzyonu kanamaya bağlı kaybedilen eritrosit hacminin yol açtığı komplikasyonları önlemek ve dokuların gereken oksijen ihtiyacını sağlamak amacıyla kullanılır. 1500 ml



den fazla akut major kanamalar eritrosit konsantresi transfüzyonunun en önemli endikasyonlarından biridir (3). DSÖ Hb düzeyinin kadınlarda 12 g/dl erkeklerde ise 13 g/dl nin altında olması durumunu “anemi” olarak tanımlamaktadır (12). Hastada anemi varlığı, yeterli oksijen taşıma performansını düşürmekte ve dokularda hipoksi gelişmesine neden olmaktadır (13). Anemili hastalara eritrosit konsantresi transfüzyonu yapabilmek adına gerekli Hb değerinin ne olması gerektiğine dair net bir bilgi mevcut değildir (14). Bu bağlamda Carson ve arkadaşlarının eritrosit konsantresi transfüzyonu için gerekli Hb düzeylerini belirlemek amacıyla 30 günü kapsayan ve 12.587 katılımcı ile yapmış oldukları bir çalışmanın sonuçlarına göre; hastanede yatışı olan stabil durumdaki erişkin hastalar ve durumu kritik hastalar da dahil olmak üzere Hb seviyesi 10 g/dl olduğu durumlarda transfüzyon gerekli görülmemiş ve kısıtlayıcı bir eritrosit konsantresi transfüzyonu eşığı önerilmiştir. Kardiyovasküler hastalığı bulunanlar, kalp cerrahisi ve ortopedik cerrahi hastaları için ise kısıtlayıcı eritrosit konsantresi transfüzyon eşik değeri 8 g/dl olarak belirlenmiştir ve aynı zamanda 7 g/dl’lik eşik değerin 8 g/dl ile kıyaslanabileceği gösterilmiştir. Araştırma kapsamında tüm hasta tanıları için yeterli kanıt bulunmayışından dolayı, kronik transfüzyona bağlı anemi, yüksek trombositopeni ve akut koroner sendrom tanılı hastalar, yukarıda önerilen transfüzyon eşik Hb düzeyleri kapsamı dışında tutulmuştur. Belirlenmiş olan bu kısıtlayıcı Hb eşik değerlerinin, kanama, tromboembolizm, serebrovasküler durum ve miyokard infarktüsünün de dahil olduğu, 30 gün içerisindeki mortalite de ciddi olumsuz değişimlere neden olduğu izlenmemiştir ve çalışmanın bir diğer sonucu olarak transfüzyonların iki ünite olarak değil de bir ünite eritrosit konsantresi ile gerçekleştirilmesi gerektiği vurgulanmıştır (15). İngiliz Hematoloji Dergisine göre ise akut hastalıklar ve belirgin komorbiditeler hariç, kısıtlayıcı Hb eşik değerinin 7 g/dl olarak alınabileceği gösterilmiştir (13). Kanada Yoğun Bakım Derneği tarafından yayınlanan rehberde de; stabil

olmayan anjina ve akut miyokard infarktüsü tanılı hastalar hariç eritrosit konsantresi transfüzyonunda kısıtlayıcı bir yaklaşımın çok daha etkili olduğu belirtilmiştir (16). Tüm bu yaklaşımların yanı sıra Hb değeri oksijenizasyonu belirlemek adına tek başına asla yeterli değildir. Çünkü Hematokrit seviyesi hipovolemi durumu varlığında aneminin ne düzeyde olduğunu doğru bir şekilde göstermeyebileceğinden bu gibi durumlarda eritrosit konsantresi transfüzyon kararı alırken bireysel faktörler de göz önünde bulundurulmalıdır (17).

### 3. Trombosit konsantresi transfüzyonu

Kanamanın engellenmesi, trombositopeni ve birincil ya da ikincil trombositlerin işlev bozuklukları gibi durumlarda endike olan kan bileşenidir (18). Trombosit konsantrelerinden hangisinin kullanımının uygun olduğu hususunda çeşitli araştırmalar mevcuttur. Bu araştırmalar kapsamında süspansiyonların bir kısmına Human Leucocyte Antigen (HLA) uygunluk testi yapılmış ve sonucunda daha az alloimmünizasyon gözlemlenmiş, HLA uygunluk testi yapılmamış süspansiyonlar da ise belirgin bir farklılık belirlenmemiştir (19,20). Trombosit konsantresi transfüzyonu için önerilen sınır değerler klinik tabloya göre değişmekle birlikte trombositopenik ( $100 \times 10^9$ ) hastalar kanama tehditi ile karşı karşıyadır (21). Trombosit konsantresi transfüzyonu terapötik ve/veya profilaktik olmak üzere iki farklı yöntemle gerçekleştirilebilmektedir. Trombositopenik hastalar ve trombosit işlev bozukluğu bulunan hastalara cerrahi öncesi kanamayı engellemek adına profilaktik trombosit konsantreleri tercih edilirken, akut kanama tedavisi için terapötik trombosit konsantreleri tercih edilir (22). Antitrombotik ajanların kullanımı ve böbrek hastalığı, hastada trombosit işlev bozukluğunun en belirgin nedenleri arasındadır ve dolayısı ile bu gibi durumlarda trombosit sayısından çok hastanın klinik durumuna göre transfüzyon kararı alınmalıdır (23). Trombosit konsantresi transfüzyonu için önerilen sınır değerler Tablo 1’de gösterilmiştir (17).

**Tablo 1.** Trombosit konsantrisi transfüzyonu için önerilen sınır değerler (17)

Durum	Önerilen Sınır
Girişimsel cerrahi işlemler	$\geq 50,000/\mu\text{l}$
Akut lösemi hastalarında	$\leq 10,000/\mu\text{l}$
Spinal anestezi	$<50,000/\mu\text{l}$
Majör cerrahi girişimler	$<50,000/\mu\text{l}$
Diş tedavisi öncesi	$<20,000/\mu\text{l}$
Santral venöz kateter yerleştirme	$<20,000/\mu\text{l}$
Lomber ponsiyon	$\leq 50,000 /\mu\text{l}$
Eklem aspirasyonu	$<20,000/\mu\text{l}$
Perkütan karaciğer biyopsisi	$>50,000/\mu\text{l}$
Transjuguler karaciğer biyopsisi öncesi	$<10,000/\mu\text{l}$
Minör cerrahi girişimlerden önce	$\leq 20,000/\mu\text{l}$
Santral venöz kateter takılmadan önce	$<20,000/\mu\text{l}$
Kemik iliği biyopsisi öncesi	trombosit replasmanı önerilmez
Endoskopi ve endoskopik biyopsi	$<20,000/\mu\text{l}$
Bronkoskopi öncesi	$<20,000/\mu\text{l}$

#### 4. Taze Donmuş Plazma (TDP) replasmanı

Çözülmüş bir plazmada F5 ve F8 miktarı düşüktür ve defibrinasyon sendromu (yaygın intravasküler pıhtılaşma) olan hastalarda endike değildir. Taze donmuş plazmalar, antikoagulan etkileri tersine çevirmek adına da kullanılabilir (3).

Faktör konsantrisi bulunmayan izole konjenital faktör eksikliklerine bağlı kanama durumunda,

- Masif transfüzyonda,
- Belirgin kanama eşliğinde multiple edinsel faktör eksikliği durumunda yada invaziv bir girişim yapılacaksa,
- Vitamin K eksikliğine bağlı kanama durumlarında,
- Karaciğer yetmezliğine bağlı kanamalarda,
- Trombotik trombositopenik purpura ve diğer trombotik mikroangiopatiler, diffüz alveolar hemoraji, katastrofik antifosfolipid antikör sendromunda,
- Disseminated intravascular coagulation (DIC),
- Yaygın damar içi pıhtılaşma sendromu

• Varfarin etkisinin antagonizasyonu (acil durumlarda ve kanama varlığında ) TDP replasmanı yapılır (11,17,28).

TDP'nin yineleyen dozlarının transfüze edilip edilmeyeceğini ve hangi zaman diliminde transfüze edileceğini tespit edebilmek için kanamanın kontrolü ve koagülasyon zamanı değerleri (protrombin zamanı, Uluslararası Normalleştirilmiş Oranı (INR) ve parsiyel tromboplastin zamanı) referans alınmalıdır (12). Aktif kanaması olan ve INR sonucu 1,6'dan büyük olan hastalarda yada bir hasta antikoagüle edilmişse invaziv bir prosedür veya ameliyattan önce plazma transfüzyonu önerilmektedir (3).

#### 5. Kriyopresipitat replasmanı

Kriyopresipitatlar genellikle masif kanama veya tüketim koagülopatisi sonucu gelişen hipofibrinojenemi durumlarında kullanılır (3). Kriyopresipitat transfüzyonu endikasyonları Tablo 2'de gösterilmiştir (14,24,25).

Tablo 2. Kriyopresipitat replasmanı endikasyonları (17,24,25)

Yetişkinler	Yenidoğanlar
* Masif kanama veya cerrahi kanama	* Antikoagülen faktör VIII eksikliği
* Fibrinojen eksikliği (<1 g/l)	* Antikoagülen faktör XIII eksikliği
* Trombolitik tedavinin antagonizasyonu	* Konjenital disfibrinojenemi
* Konjenital afibrinojenemi / Hipofibrinojenemi / Disfibrinojenemi	* Konjenital fibrinojen eksikliği
* Üremik kanamalar	* Von Willebrand hastalığı
* Amniyotik sıvı embolisi	
* Yılan zehirlenmesi	

## SONUÇ

Kanın içerisindeki hücresel ve humoral yapılara bağlı olarak kan transfüzyonu; bulaşıcı infeksiyonlar, alloimmünizasyon, alerjik reaksiyonlar ve volüm yüklenmesi gibi durumlara sebebiyet veren bu yüzden organ transplantasyonu olarak kabul edilmesi gereken maliyetli bir işlemdir (12). HKY yararlarının bilinmesine ve kabul görmüş olmasına rağmen bazı engel teşkil eden faktörler nedeniyle ülkemiz genelinde henüz yaygın olmayan bir uygulamadır. Bilgi eksikliği, yeterli zaman ve gerekli sayıda personelin olmayışı, güncel rehberlere karşı olan önyargı, mevcut değişimleri takip için gerekli sistemlerin eksikliği ve yeni Standart İşletim Prosedürleri geliştirme konusunda yetersizlik bu faktörlerden bazılarıdır (6). Etkin bir biçimde uygulanan HKY projesinin, klinik sonuçları olumsuz etkilemeden transfüzyon uygulamalarında ciddi düşüşler sağladığı ve maliyetleri en aza indirdiği görülmektedir. Bir bakım standardı olarak değerlendirilen HKY projesinin kısa bir zaman içinde tam anlamıyla pratiğe döküleceği düşünülmektedir fakat geniş kitleler tarafından uygulanması henüz

beklenmemektedir. Projenin yerleşmesi için çok daha fazla sayıda kurum HKY ilkelerinden yararlanmalı ve bunları hastalarının gereksinimlerine göre tasarlamalıdır (6).

HKY uygulamalarının önemli bir basamağı olan anemi polikliniklerin kurulması ve süreç yönetimi için ekip olarak hareket etmek oldukça önem arz etmektedir. Bu bağlamda hematoloji, aile hekimliği, anesteziyoloji ve cerrahi klinikleriyle organizasyonların yapılması hastane idareleri tarafından sağlanmalıdır (26).

HKY projesi kapsamında, var olan aneminin operasyon öncesi tespit edilerek uygun tedavinin sağlanması, kan kaybının minimum düzeye indirilmesi ve böylece gereksiz transfüzyon uygulamalarının önüne geçmek amacıyla ilk anemi polikliniğinin Sakarya Eğitim ve Araştırma Hastanesinde 17.01.2022 tarihi itibarıyla faaliyet göstermeye başlaması ise HKY'yeyönelik ülkemizde atılan adımların bir örneğidir (27).

Sonuç olarak; HKY projesinin komplikasyonları ve mortaliteyi azaltmadaki etkinliğini ve maliyeti önemli ölçüde düşürdüğünü doğrulayan daha fazla çalışmaya gereksinim vardır.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. Erkurt MA, Özhan O. Eritrosit süspansiyonları ve transfüzyon endikasyonları. Türk Klinik Dahili Tıp Bil Derg, 2007;36:50-3.
2. Kor DJ, Ognjen G. Blood Product Transfusion in The Critical Care Setting. In: Vincent JL, ed. Curr Opin Crit Care. 16(4). United States: Lippincott Williams and Wilkins Ltd. , 2010: 309-16.
3. Sharma S, Sharma P, Tyler LN. Transfusion of blood and blood products: Indications and complications. Am Fam Physician, 2011; 83(6): 719-24.
4. Goodnough LT, Shander A. Blood management. Arch Pathol Lab Med, 2007; 131(5): 695-701.
5. Spahn DR, Muñoz M, Klein AA, Levy JH, Zacharowski K. Patient blood management: Effectiveness and future potentia, Anesthesiology, 2020; 133(1): 212-22.
6. Hasta Kan Yönetimi Projesi 2019, Erişim adresi: <https://hastakanyonetimi.saglik.gov.tr/Content/Index/?id=1012> (Erişim tarihi: 20/11/2021).
7. Goel R, Shi PA. Patient Blood Management. In: Shaz BH, Hillyer CD, Gil MR eds. Transfusion Medicine and Hemostasis. Third Edition. Amsterdam: Stacy Masucci, 2019: 371-8.
8. Zeller MP, Kaufman RM. Safeguarding the patient's own blood supply. JAMA, 2019; 321(10): 943-5.
9. Shander A, Aken HV, Colomina MJ, Gombotz H, Hofmann A, Krauspe R, et al. Patient blood management in Europe. British J Anaesth, 2012; 109(1): 55-68.
10. Murphy MF, Palmer A. Patient Blood Management as the Standard of Care, Hematology ASH Education Program, 2019; (1): 583-9.
11. Hemovijilans Kapsamında Kan ve Kan Ürünlerinin Transfüzyon Endikasyonları ve Transfüzyon Reaksiyonlarına Yaklaşım Kılavuzu 2011. T.C Erciyes Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Rev. No: 2 Rev. 2020; 8-18.
12. Jelkmann I, Jelkmann W. Impact of erythropoietin on intensive care unit patients. Transfus Med Hemother, 2013; 40(5): 310-8.
13. Retter A, Wyncoll D, Pearse R, Carson D, McKechnie S, Stanworth S, et al. Guidelines on The Management of Anaemia and Red Cell Transfusion in Adult Critically Ill Patients, Bjhaem, 2013; 160(4): 445-64.
14. Carson JL, Stanworth SJ, Roubinian N, Fergusson DA, Triulzi D, Doree C, et al. Transfusion thresholds and other strategies for guiding allogeneic red blood cell transfusion. Cochrane Database Syst Rev, 2016; 10(10): CD002042.
15. Carson JL, Guyatt G, Heddle NM, Grossman BJ, Cohn CS, Fung MK, et al. Clinical practice guidelines from the AABB: Red blood cell transfusion thresholds and storage. JAMA, 2016; 316(19): 2025-35.

16. Hébert PC, Wells G, Blajchman MA, Marshall J, Martin C, Pagliarello G, et al. A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. Transfusion Requirements in Critical Care Investigators, Canadian Critical Care Trials Group. *NEJM*, 1999; 340(6):409-17.
17. Kanın Uygun Klinik Kullanımı Rehberi (2020), Erişim adresi: <https://shgmkanhizmetleridb.saglik.gov.tr/Eklenti/37459/0/kanin-uygun-klinik-kullanimi-rehberi-kukk--23-mayis-2020pdf.pdf> (Erişim tarihi: 31/10/2022).
18. Liunbruno G, Bennardello F, Lattanzio A, Piccoli P, Rossetti G. Recommendations for the Transfusion of Plasma and Platelets. Italian Society of Transfusion Medicine and Immunohaematology (SIMTI) Work Group, 2009; 7(2): 132-50.
19. Tormey CA, Sweeney JD, Champion MH, Pisciotto PT, Snyder EL, Wu Y. Analysis of transfusion reactions associated with prestorage-pooled platelet components. *J AABB Trans*, 2009; 49(6): 1242-7.
20. Gavva C, Barroso J, Gernsheimer T, Metcalf RA, Warner P, Pagano MB. Response to random apheresis platelets versus HLA-selected platelets versus pooled platelets in HLA-sensitized patients, *JPAC*, 2019; 59(7): 2276-81.
21. Türk Hematoloji Derneği, İmmün Trombositopeni Tanı ve Tedavi Kılavuzu. Erişim adresi: <http://www.thd.org.tr/thdData/userfiles/file/IMM%C3%9CN%20TROMBOSITOPENI.pdf> (Erişim tarihi:01/11/2022).
22. Alcaina PS. Platelet transfusion: and update on challenges and outcomes. *J Blood Med*, 2020; 11:19-26.
23. Lin Y, Foltz LM. Proposed guidelines for platelet transfusion. *BC Med J*, 2005; 47(5): 245-8.
24. Poterjoy BS, Josephson CD. Platelets, Frozen Plasma, and Cryoprecipitate: What is the clinical evidence for their use in the Neonatal Intensive Care Unit. *Seminars in Perinatology*, 2009; 33(1): 66-74.
25. Callum JL, Karkouti K, Lin Y. Cryoprecipitate: the current state of knowledge. *Trans Med Rev*, 2009; 23(3): 177-188.
26. Ulutaş E. Hasta Kan Yönetiminde Preoperatif Anemi Polikliniklerinin Kurulması. Ed; Altındış M. Hemovijilans Hemşireliği ve Transfüzyon Güvenliği. 2. Basım. Ankara. Nobel Akademik Yayıncılık.2022;177-8.
27. <https://sakaryaeah.saglik.gov.tr/TR-771787/hasta-kan-yonetimi-anemi-poliklinigi-turkiyede-ilk-defa-seahda-acildi.html> (<https://sakaryaeah.saglik.gov.tr/TR-606675/seahta-anemi-poliklinigi-aciliyor.html> (Erişim tarihi:17/01/2022)).
28. Karaman Y. Kan ve Kan Ürünleri İçinde İlkben GÜNÜŞEN (Ed.), Perioperatif Kan Transfüzyonu. Ege Üniversitesi Rektörlüğü Kütüphane ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı, İzmir. 2020;11-27.

## TELİF HAKKI DEVİR FORMU / COPYRIGHT TRANSFER FORM



**HALK SAĞLIĞI GENEL MÜDÜRLÜĞÜ / GENERAL DIRECTORATE OF PUBLIC HEALTH**  
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi / Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

Makale Türü/Article Type: ...../...../20...

(...) Araştırma/Research (..) Derleme/Review (..) Olgu Sunumu/Case Report

(..) Editöre Mektup/Letter to Editor (..) Teknik Rapor/Technical Report

Makale Başlığı/Article Entitled : .....

Sayın Editör,

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

1. Derginizde yayımlanmak üzere yollamış olduğumuz makalenin 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 rights and copyrights,
4. The article publishing rights belong to Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology.

(...1) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

(...2) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

(...3) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

(...4) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

(...5) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

Not / Note :

1. İletişim kurulacak yazarın yanına (X) işareti koyunuz / Please indicate the corresponding author with (X)
2. Formu aşağıdaki adrese gönderiniz veya elden teslim ediniz / Please send this form to the address below or deliver personally

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi / Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology  
Sağlık Mah. Adnan Saygun Cad. No: 55 E Blok Park Girişi 06100 Sıhhiye-ANKARA-TURKEY

Tel/Phone : +90 312 565 55 80

Faks/Fax : +90 312 565 55 91

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

