



**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 75 ■ Sayı/Number 2 ■ Yıl/Year 2018

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

**Hüseyin İLTER, Genel Müdür (General Director)**

### EDİTÖR / EDITOR IN CHIEF

Hasan IRMAK

### EDİTÖR YARDIMCILARI / DEPUTY EDITORS

Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN

Demet CANSARAN-DUMAN

Hülya ŞİMŞEK

Pınar KAYNAR

### YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Mehmet Kürşat DERİCİ

Fatih BAKIR

Mestan EMEK

Fehminaz TEMEL

Selin NAR-ÖTGÜN

Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK

Şule ŞENSES-ERGÜL

Arsun ESMER

Sibel KARACA

Gülsen TOPAKTAŞ

### TEKNİK KURUL / TECHNICAL BOARD

Utku ERCÖMART

Zeynep KÖSEOĞLU

Selahattin TAŞOĞLU

## HALK SAĞLIĞI GENEL MÜDÜRLÜĞÜ

### GENERAL DIRECTORATE OF PUBLIC HEALTH

### ANKARA-TÜRKİYE

Yılda dört kez yayımlanır / Published four times per year

Asitsiz kağıt kullanılmıştır / Acid free paper is used

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

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü / General Directorate of Public Health  
İdari ve Mali İşler Daire Başkanlığı /  
Administrative and Financial Affairs Department

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

**Artı6 MEDYA**  
Maltepe mah. Özveren cad. 13/A/Değirmentepe/Kızılay-ANKARA  
Tel: +90 312 299 37 41  
e-posta: filmcikis@yahoo.com

#### Yayın Türü / Type of Publication :

Yerel Süreli Yayın / Periodical Publication

#### Basım Tarihi / Date of Publication :

2018

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

## ULUSLARARASI BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / INTERNATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Ali MIRAZIMI, İsveç

Anna PAPA, Yunanistan

Aziz SANCAR, ABD

Cristina DOMINGO, Almanya

Daniel MOTLHANKA, Botswana

Dwight D. BOWMAN, ABD

Isme HUMOLLI, Kosova

Isuf DEDUSHAJ, Kosova

Iva CHRISTOVA, Bulgaristan

Johan LINDH, İsveç

Kosta Y. MUMCUOĞLU, İsrail

Manfred WEIDMANN, İngiltere

Paul HEYMAN, Belçika

Pauline MWINZI, Kenya

Roberto Caneta VILLAFRANCE, Küba

Sıraç DİLBER, İsveç

Susana RODRIGUEZ-COUTO, İspanya

Takashi AKAMATSU, Japonya

Varalakshmi ELANGO, Hindistan

## ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

A. Gülçin SAĞDIÇOĞLU-ÇELEP, Ankara

Abdülkadir HALKMAN, Ankara

Ahmet ÇARHAN, Ankara

Ahmet KART, Ankara

Akçahan GEPEĐREMEN, Bolu

Ali ALBAY, Ankara

Ali Kudret ADILOĞLU, Ankara

Ali Naci YILDIZ, Ankara

Alp ERGÖR, İzmir

Alper AKÇALI, Çanakkale

Aşkın YAŞAR, Ankara

Ateş KARA, Ankara

Aydan ÖZKÜTÜK, İzmir

Aykut ÖZKUL, Ankara

Ayşegül GÖZALAN, Ankara

Ayşegül TAYLAN ÖZKAN, Çorum

Banu ÇAKIR, Ankara

Bayram ŞAHİN, Ankara

Bekir ÇELEBİ, Ankara

Belgin ÜNAL, İzmir

Berrin ESEN, Ankara

Birce TABAN, Ankara

Bülent ALTEN, Ankara

Celal F. GÖKÇAY, Ankara

Cemal SAYDAM, Ankara

Çağatay GÜLER, Ankara

Delia Teresa SPONZA, İzmir

Demet CANSARAN DUMAN, Ankara

Dilek ASLAN, Ankara

Dilek YAĞCI ÇAĞLAYIK, İstanbul

Diler ASLAN, Denizli

Doğan YÜCEL, Ankara

Duygu ÖZEL DEMİRALP, Ankara

Emrah RUH, Kıbrıs

Ender YARSAN, Ankara

Erhan ESER, Manisa

Erkan YILMAZ, Ankara

Fatih BAKIR, Ankara

Fehminaz TEMEL, Ankara

Fügen DURLU ÖZKAYA, Ankara

Fügen YÖRÜK, Ankara

Gönül ŞAHİN, Ankara

Görkem MERGEN, Ankara

Gül ERGÖR, İzmir

Gül Ruhsar YILMAZ, Ankara

Gülberk UÇAR, Ankara

Gülnur TARHAN, Adıyaman

Hakan ABACIOĞLU, İzmir

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

## ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Haluk VAHABOĞLU, İstanbul

Hasan IRMAK, Ankara

Hasan TEZER, Ankara

Hayrettin AKDENİZ, Bolu

Hilal ÖZDAĞ, Ankara

Hülya ŞİMŞEK, Ankara

Hürrem BODUR, Ankara

Işıl MARAL, İstanbul

İ. Mehmet Ali ÖKTEM, İzmir

İpek MUMCUOĞLU, Ankara

İrfan EROL, Ankara

İrfan ŞENCAN, Ankara

İsmail CEYHAN, Ankara

Kemal Osman MEMİKOĞLU, Ankara

Koray ERGÜNAY, Ankara

Levent AKIN, Ankara

Mahinur AKKAYA, Ankara

Mehmet Ali ONUR, Ankara

Mehmet Kürşat DERİCİ, Çorum

Mestan EMEK, Antalya

Metin KORKMAZ, İzmir

Mithat ŞAHİN, Kars

Muhsin AKBABA, Adana

Murat DİZBAY, Ankara

Mustafa AKSOY, Ankara

Mustafa ERTEK, Ankara

Mustafa Necmi İLHAN, Ankara

Mustafa Kasım KARAHOCAGİL, Kırşehir

Mustafa Kemal BAŞARALI, Ankara

Mustafa KAVUTÇU, Ankara

Mükerrem KAYA, Erzurum

Nazan YARDIM, Ankara

Nazime MERCAN, Denizli

Nazmi ÖZER, Ankara

Nilay ÇÖPLÜ, Ankara

Nur AKSAKAL, Ankara

Nur Münevver PINAR, Ankara

Nuran ESEN, İzmir

Oğuz GÜRSOY, Denizli

Orhan BAYLAN, İstanbul

Orhan YILMAZ, Ankara

Özlem KURT AZAP, Ankara

Pınar KAYNAR, Ankara

Pınar OKYAY, Aydın

Rahmet GÜNER, Ankara

Recep AKDUR, Ankara

Recep KEŞLİ, Afyonkarahisar

Recep ÖZTÜRK, İstanbul

Rıza DURMAZ, Ankara

S. Aykut AYTAÇ, Ankara

Saime ŞAHİNÖZ, Gümüşhane

Sami AYDOĞAN, Kayseri

Sarp ÜNER, Ankara

Seçil ÖZKAN, Ankara

Seda KARASU YALÇIN, Bolu

Seda TEZCAN, Mersin

Selçuk KAYA, Trabzon

Selçuk KILIÇ, Ankara

Selim KILIÇ, Ankara

Selin NAR ÖTGÜN, Ankara

Sema BURGAZ, Ankara

Semra Ayşe GÜREŞER, Çorum

Sercan ULUSOY, İzmir

Sultan ESER, İzmir

Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Manisa

Sümer ARAS, Ankara

Şule SENSES ERGÜL, Ankara

Tevfik PINAR, Kırıkkale

Turan BUZGAN, Ankara

Yeşim ÖZBAŞ, Ankara

Yunus Emre BEYHAN, Van

Zafer ECEVİT, Ankara

Zafer KARAER, Ankara

Zati VATANSEVER, Kars

Zeynep GÜLAY, İzmir

## TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ YAZIM KURALLARI

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 11. Araştırma yazıları;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

j) **GenBank/DNA Dizi Analizi:** Gen kilitim 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.

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

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

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

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

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

16. Bu kurallara uygun olmayan metinler kabul edilmez.

17. Yazarlar teslim ettikleri yazının bir kopyasını saklamalıdır.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü

Tel : (0312) 565 55 80

Faks : (0312) 565 55 91

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 11. Research Articles;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

j) 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)".

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

12. Research articles should have up to 40 references.

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

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

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

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

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

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

Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

General Directorate of Public Health

Tel : +90 312 565 55 80

Fax : +90 312 565 55 91

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

# TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

## YAYIN İLKELERİ

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

## YAZAR(LAR) İÇİN MAKALE KONTROL LİSTESİ

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

## EDITORIAL POLICY

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

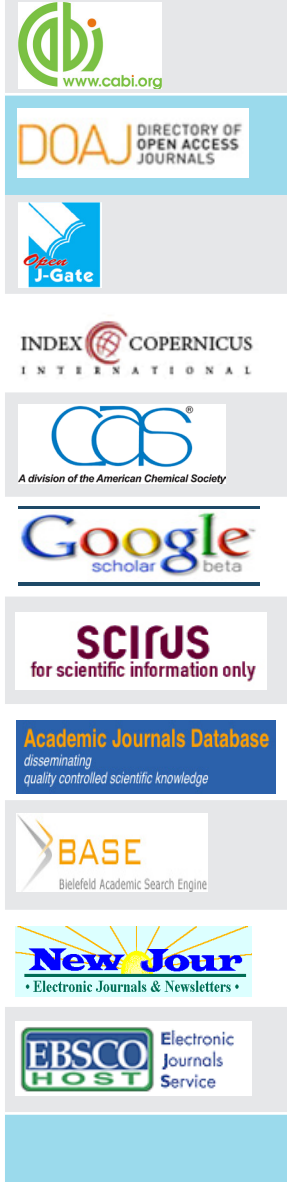
## CHECKLIST OF THE ARTICLE FOR AUTHOR(S)

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



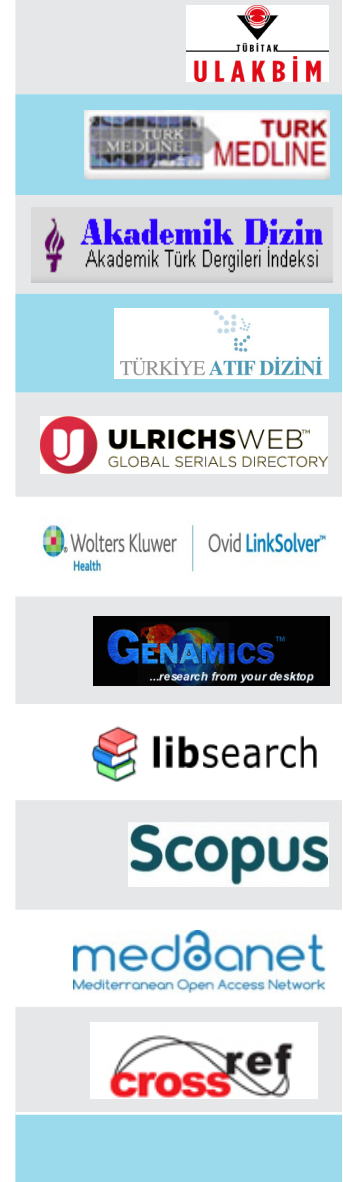
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne  
[www.turkhijyen.org](http://www.turkhijyen.org) adresinden online olarak makale gönderilebilir

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



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

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



## İLETİŞİM

## CORRESPONDENCE

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: thsk.thdbd@saglik.gov.tr

http: www.hsgm.gov.tr

www.turkhijyen.org



## ■ Araştırma Makalesi / Original Article

1. İdrar örneklerinden MALDI-TOF MS sistemi ile direkt bakteri tanımlanması  
Direct definition of direct bacteria by MALDI-TOF MS system from urinary examples  
Ayşe Nuriye VARIŞLI, Gülşen ÇETİN-HAZIROLAN, Altan AKSOY, Neriman AKSU-KOCA  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.87598 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 101 - 108
2. Farklı klinik örneklerden izole edilen çoğul dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında tigesisiklin ve kolistin dirençlerinin disk difüzyon, E-test ve otomatize sistem yöntemleri ile karşılaştırılması  
Comparison of disc diffusion, E-test and automated system methods for the determination of resistances to tigecycline and colistin by multiple resistant *Acinetobacter baumannii* isolates which isolated from different samples  
Nuriye İsmihan Ece Paköz, Esra KAYA, Zarife ORHAN, Arzu KAYIŞ, Murat ARAL  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.13334 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 109 - 116
3. The first external quality assurance laboratory proficiency assessment study of national antimicrobial resistance surveillance system in Turkey  
Türkiye'deki ulusal antimikrobiyal direnç sürveyans sisteminin ilk dış kalite güvencesi laboratuvar yeterlilik değerlendirmesi  
Nilay CÖPLÜ, Zeynep GÜLAY, Fehminaz TEMEL, Hüsnüye ŞİMŞEK, Neşe GÖL, Dilber AKTAŞ, Gülçin BAYRAMOĞLU, Cüneyt ÖZAKIN, Mete EYİGÖR, Duygu PERÇİN, Kezban GÜRDOĞAN, Murad BAYRAM  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.10437 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 117 - 126
4. Spotchem EZ SP-4430 kuru kimya cihazında çalışılan bazı biyokimya testleri verifikasyonu  
Verification of some biochemistry tests that to be analyzed in Spotchem EZ SP-4430 dry chemistry system  
YAKUP DÜLGEROĞLU  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.49344 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 127 - 134
5. Moleküler mikrobiyoloji laboratuvarında ortam kontrolü nasıl yapılır?  
How to control of the workspace environment in the molecular microbiology laboratory?  
Dilek GÜLDEMİR  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.83713 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 135 - 142
6. TS EN ISO/IEC 17025 standart kapsamında akredite olan su laboratuvarlarında müşteri memnuniyetinin değerlendirilmesi  
Evaluation of customer satisfaction in water laboratories which are accredited within the scope of TS EN ISO/IEC 17025 standard  
Pınar KAYNAR, Mukaddes ŞENSES, Sibel KARACA, Yıldırım CESARETLİ  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.74508 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 143 - 152
7. Adana ilindeki bazı çiftçilerin genetiği değiştirilmiş tohumlar hakkındaki bilgi düzeyleri ve tutumları  
Knowledge and attitudes of some farmers about genetically modified seeds in Adana province  
Özcan AYGÜN  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.02223 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 153 - 168
8. Increased rates of vaccination among healthcare workers through cause-directed solutions: a state hospital example  
Nedene yönelik çözümlerle artan aşılama oranları: ikinci basamak hastane örneği  
Zehra KARACAER, Hüsrev DİKTAŞ  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.91887 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 169 - 174
9. Adıyaman ili Kâhta ilçesinde bir öğrenci yurdunda görülen gıda kaynaklı salgın, Şubat 2015  
A foodborne outbreak in a dormitory in Kahta district in Adıyaman province, February 2015  
Zeynep GÜNEŞ-ÇELEBİ, Demet BÖREKÇİ, Figen SEZEN, Fehminaz TEMEL, Mustafa DOST  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.75547 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 175 - 182
10. Yara kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik dirençleri, 2010-2015  
Microorganisms and antibiotic resistances isolated from wound cultures, 2010-2015  
Nezire Mine TURHANOĞLU, Esra KOYUNCU, Fulya BAYINDIR-BİLMAN  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.56338 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 183 - 194
- Derleme / Review
11. Kuaför salonlarındaki kimyasallara mesleki maruziyet ve sağlık riski  
Occupational exposure to the chemicals in hairdressing salons and health risk  
Ayça AKTAŞ-ŞÜKÜROĞLU, Sema BURGAZ  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.36539 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 195 - 212
12. Kardiyovasküler hastalıklarda barsak mikrobiyotasının rolü  
The role of gut microbiota in cardiovascular diseases  
Zinnet Şevval AKSOYALP, Cahit NACİTARHAN  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.32068 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 213 - 224



## İdrar örneklerinden MALDI-TOF MS sistemi ile direkt bakteri tanımlanması

### Direct definition of direct bacteria by MALDI-TOF MS system from urinary examples

Ayşe Nuriye VARİŞLİ<sup>1</sup>, Gülşen ÇETİN-HAZIROLAN<sup>2</sup>, Altan AKSOY<sup>2</sup>, Neriman AKSU-KOCA<sup>2</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE)'de etken bakterinin erken saptanması; uygun antibiyotik tedavisine kısa sürede başlanması ve maliyet açısından oldukça önemlidir. ÜSE'nin tanısında idrar kültürü altın standarttır. Kültür ve antibiyotik duyarlılık testi 48-72 saat sürmektedir. Matriks aracılı lazer dezorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) ile kültürde üretilen bakteriler birkaç dakika içinde tanımlanırken, direkt klinik örnekten tanımlama genellikle iki saat gibi kısa bir zaman içinde yapılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, idrar örneklerinden MALDI-TOF MS sistemi ile bakterinin direkt olarak tanımlanması ve tedaviye olabildiğince erken başlanmasına katkı sağlamasıdır.

**Yöntem:** Hastanemizin mikrobiyoloji laboratuvarına 01 Temmuz - 30 Kasım 2015 tarihleri arasında ÜSE şikayetiyle gönderilen 152 idrar örneği çalışmaya alınmıştır. Rastgele seçilen örneklerin bir kısmına deneysel olarak Gram boyama yapılırken bir kısmına yapılmamıştır. Direkt idrar örneklerinden MALDI-TOF MS sistemi ile bakteri tanımlanması için örneklere formik asit ekstraksiyon metodu uygulanmıştır. Bu örneklere eş zamanlı olarak idrar kültürü de yapılmıştır. 37 °C'de aerobik ve %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda 18-24 saatlik inkübasyondan sonra anlamlı üreme saptanan plaklardaki kolonilerin

#### ABSTRACT

**Objective:** Rapid identification of bacterial pathogens from urine specimens are essential to establish an adequate antibiotic therapy to treat urinary tract infections and it is very important in terms of cost. Urine culture is gold standard in the diagnosis of UTI (Urinary Tract Infection). Urine culture and antibiogram usually takes 48-72 h. The bacteria produced in culture identified within a few minutes while the clinical samples are identified in a short time like two hours by Matrix-assisted laser desorption and ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). The aim of this study is to contribute identification of the direct bacteria by MALDI-TOF MS system and to start early effective treatment of urine specimens.

**Methods:** We analyzed 152 urine samples with UTI complaints were submitted to the microbiology laboratory between July to November 2015. While some of the samples were experimentally Gram stained, some were not. Formal acid extraction method was applied to urine specimens for direct bacterial identification with MALDI-TOF MS system. In this example, the urine culture was also performed simultaneously. Identification of the colonies in plaque, which was incubated in media at 37 °C in

<sup>1</sup>Kırıkkale Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği, Yüksek İhtisas Hastanesi, Kırıkkale  
<sup>2</sup>Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Ayşe Nuriye VARİŞLİ

Kırıkkale Yüksek İhtisas Hastanesi, Merkez Lab. Mikrobiyoloji Bölümü, 71000 Kırıkkale - Türkiye  
Tel : +90 507 766 96 98 E-posta / E-mail : aysenurvarisli@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 11.04.2017  
Kabul Tarihi / Accepted : 16.02.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.87598

Varışlı AN, Çetin-Hazirolan G, Aksoy A, Aksu-Koca N. İdrar örneklerinden MALDI-TOF MS sistemi ile direkt bakteri tanımlanması.  
Turk Hij Den Biyol Derg, 2018; 75(2): 101-108

tanımlanması MALDI-TOF MS sistemi ile yapılmıştır.

**Bulgular:** İdrar örneklerinden direkt bakteri tanımlanmasında, MALDI-TOF MS sisteminin duyarlılığı %76 olarak bulunmuştur. MALDI-TOF MS sistemi ile ekstraksiyon öncesinde bakteriyel yükü belirlemede, Gram boyama yapılmasının test sonuçlarına etkisinin belirlenmesi amacıyla istatistiksel analiz yapılmıştır. Buna göre Gram boyama uygulamasının MALDI-TOF MS sisteminin tanı performansı üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). Kültürde 105 tek çeşit bakteri üremesi olan örneklerde, direkt örnekten MALDI-TOF MS ile ve idrar kültüründen MALDI-TOF MS ile tanımlanan bakterilere bakıldığında; *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* ve *Clostridium striatum*'da tanımlama oranı yüksek bulunurken, streptokoklar ve nonfermenter Gram negatif bakterilerde tanımlama yapılamamıştır. Deneysel olarak MALDI-TOF MS'in düşük bakteriyel konsantrasyonlardaki güvenli tanımlama düzeyini belirlemek amacıyla; *E. coli* ve *E. faecalis* suşlarının  $1 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^5$ ,  $2 \times 10^5$ ,  $1,2 \times 10^5$ ,  $6 \times 10^4$  ve  $3 \times 10^4$  kob/mL dilüsyonları yapılarak MALDI-TOF MS ile tanımlanmıştır. *E. coli* suşu,  $1 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^5$  ve  $2,5 \times 10^5$  kob/mL dilüsyonlarında, *E. faecalis* ise sadece  $1 \times 10^6$  kob/mL dilüsyonda yüksek düzey güven aralığında bulunmuştur.

**Sonuç:** Bu çalışmada, MALDI-TOF MS yönteminin duyarlılığı  $10^5$  ve/veya  $10^6$  kob/mL tek çeşit Gram negatif bakteriyüri olan örneklerde yüksek (%76) bulunurken, karışık veya  $10^3$  kob/mL ve altında bakteriyüri veya candidüri olan örneklerde tanımlama yapılamamıştır. Ek olarak MALDI-TOF MS yöntemiyle idrar örneğinden direkt bakteri tanımlanması öncesinde Gram boyama uygulamasının etkinliği araştırılmış ve Gram boyamanın MALDI-TOF MS sisteminin tanı performansına katkı sağladığı ve bu nedenle çalışmaya alınan örnekler Gram boyama yapılması gerektiği düşünülmüştür. Bu yöntem, idrar kültüründe  $10^5$  kob/mL tek bakteri üremesi olan hastalarda, klasik kültür yöntemine göre daha hızlı sonuç verebilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** idrar örnekleri, MALDI-TOF MS, idrar kültürü, tanımlama

aerobic and 5% CO<sub>2</sub> for 18-24 hours of incubation, were performed with the MALDI-TOF MS system.

**Results:** The sensitivity of direct sample from MALDI-TOF MS system was found to be 76%. Statistical analysis was performed to determine whether the Gram stain had any effect on the bacterial load and consequently on the identification of the MALDI-TOF MS system. According to this, there was a significant difference between Gram staining group and non - Gram staining group ( $p < 0.001$ ). Higher identification rates were found in *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Clostridium striatum* (except streptococci and nonfermenter Gram negative bacteria),  $10^5$  cfu/mL single culture, MALDI-TOF MS directly from urine culture and MALDI-TOF MS from urine culture. Experimentally, in order to determine the safe identification by MALDI-TOF MS low bacterial concentrations; The *E. coli* and *E. faecalis* strains were identified by MALDI-TOF MS with  $1 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^5$ ,  $2.5 \times 10^5$ ,  $1.2 \times 10^5$ ,  $6 \times 10^4$  and  $3 \times 10^4$  cfu/mL dilutions. A minimum of  $1 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^5$  and  $2 \times 10^5$  cfu/mL were identified to reliable scores for *E. coli* strains, while *E. faecalis* was defined at  $1 \times 10^6$  cfu/mL dilution only.

**Conclusion:** In this study, MALDI-TOF MS method the sensitivity  $10^5$  and / or  $10^6$  cfu/mL higher in the single kind of sample the Gram-mixed or  $10^3$  cfu/mL or less from the sample with bacteriuria and yeast identification was not possible. It was thought that Gram stain application determined the bacterial load before identification of direct urine specimen with MALDI-TOF MS system and contributed to the diagnostic performance of MALDI-TOF MS system and Gram stainings should be done for the samples taken for this reason. This method is faster in urine culture with  $10^5$  cfu/mL bacterial growth than conventional culture method.

**Key Words:** urine samples, MALDI-TOF MS, urine culture, identification

## GİRİŞ

Erişkin kadın ve erkeklerde bakteriyel enfeksiyonların en sık sebebi görülme sebebi üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE) olup, tüm yaş gruplarında görülebilmektedir. Dünya genelinde yılda yaklaşık 150 milyon ÜSE olgusu gelişmekte olup, bunun tedavi maliyetinin 150 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir (1). ÜSE'li hastaların tanısı; idrarda dipstik testi, boyalı-boyasız mikroskopik inceleme ve kültür ile konmaktadır. İdrar kültürü tanıda altın standart olmasına rağmen mikrobiyolojik tanımlama genellikle 24-48 saat sürmektedir. Bu zaman zarfında hastalara bazen gereksiz yere veya yetersiz dozlarda ampirik antimikrobiyal tedavi başlanmaktadır (2,3). Yöntem; kültürde izole edilebilen mikroorganizmaların proteomiklerini saptayarak hızlı ve güvenilir bir şekilde tanımlama sağlamaktadır (4). Bu çalışmanın amacı, idrar örneklerinden MALDI-TOF MS sistemi ile direkt bakterinin kısa sürede tanımlanarak etkin tedavinin erken başlanmasına katkı sağlamak için yapılmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarına 01 Temmuz - 30 Kasım 2015 tarihleri arasında üriner sistem enfeksiyonu şikayetiyle poliklinik ve servis hastalarından gelen 10 mL'lik idrar örneklerinden beş mL'si MALDI-TOF MS sistemiyle çalışılmak üzere ayrılmıştır. Kalan beş mL idrar örneği ise 2000 rpm'de beş dk. santrifüjlenmiş ve mikroskopisinde piyüri görülen idrar örnekleri çalışmaya alınmıştır.

Bu örnekler; bulanık, berrak, kanlı veya pıhtılı olup olmamasına veya gönderilen bölüme bakılmaksızın rastgele seçilmiş ve iki gruba ayrılmıştır. Birinci gruptaki 100 idrar örneğine Gram boyama yapılmazken, ikinci gruptaki örneklerin 52'sinin Gram boyasında tek tip morfolojide bakteri gözlenmiştir. İdrar örneklerinden direkt MALDI-TOF MS sistemi ile bakteri tanımlanması için bu 152 idrar örneğine formik asit ekstraksiyon metodu uygulanmış ve eş zamanlı olarak idrar kültürü de yapılmıştır. Bu amaçla; idrar örnekleri koyun kanlı ve EMB agar besiyerlerine 10 µL hacimlerde ekilmiştir. 37°C'de aerobik ve %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda 18-24

saatlik inkübasyondan sonra anlamlı üreme saptanan plaklardaki kolonilerin tanımlanması için önce makroskopik morfolojileri değerlendirilmiş daha sonra koloniler MALDI-TOF MS sistemi ile çalışılmıştır.

**İdrar örneklerinden MALDI-TOF MS formik asit ekstraksiyon metodu ile direkt bakteri tanımlanması:** Her hasta için beş mL idrar örneği, lökositleri uzaklaştırmak için 2.000 rpm'de jelli biyokimya tüpünde bir dk. süreyle santrifüj edilmiş, üst kısım atılarak, jelde biriken çökelti BD Phoenix (USA) ID Broth sıvısı ile iki-üç mL çoğaltılarak çok yavaş vortekslenmiştir. Küçük santrifüj tüplerine alınarak 13.500 xg'de beş dk santrifüj edilmiş, üst kısım atılarak dipteki çökelti kısım aspire edilmiştir. Elde edilen çökelti, 300 µL deiyonize su ve 900 µL absolut etanol ile 13.500 xg'de beş dk yıkanmış, pellet kurutulduktan sonra, 50 µL %70 formik asit ve 50 µL %100 asetonitril eklenerek, bir dk süreyle bakteri hücre bileşenlerinin ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstraksiyon ürünleri 13.500 xg'de beş dk santrifüj edilerek üst kısım, MALDI-TOF MS ile bakteriyel tanımlama yapılmak üzere MALDI plateyine uygulanmıştır.

**MALDI-TOF MS ile direkt idrar örneğinden bakteri tespitinde bakteriyel konsantrasyonun deneysel olarak belirlenmesi:** MALDI-TOF MS'nin en düşük bakteriyel konsantrasyondaki güvenli tanımlama düzeyini belirlemek amacıyla; *E. coli* ve *E. faecalis* suşları BD Phoenix (USA) ID Broth sıvısı ile beş mL 0,5 McFarland bulanıklığına ayarlanarak; 1x10<sup>6</sup>, 5x10<sup>5</sup>, 2x10<sup>5</sup>, 1,2x10<sup>5</sup>, 6x10<sup>4</sup>, 3x10<sup>4</sup> kob/mL dilüsyonları yapılmış ve formik asit ekstraksiyon metodu uygulandıktan sonra MALDI-TOF MS (Bruker, Almanya) sistemi ile çalışılmıştır.

**İstatistiksel analiz:** Sonuçların istatistiksel analizi için SPSS ver. 24.0 programı kullanılmıştır. Ki-kare testi uygulanarak p<0,05 değeri anlamlı kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan 152 idrar örneğinin MALDI-TOF MS ekstraksiyon sonuçları, altın standart olan kültür yöntemi ile kıyaslanmış ve veriler Tablo 1’de özetlenmiştir. Buna göre;

**Doğru Negatifler:** İdrar örneğinde, MALDI-TOF MS ile direkt tanımlanamayan, idrar kültüründe üreme olmayan (n:84) ve ürogenital veya cilt florası üyesi bakteri ve patojen bakteri üremesi mevcudiyetinde karışık bakteri üremesi olup tekrarı istenen örnekler (n:7).

**Doğru Pozitifler:** İdrar kültüründe  $10^5$  kob/mL ve yukarısında tek çeşit bakteri üremesi olup, direkt örnekten MALDI-TOF MS ile tanımlama yapılanlar (n:25).

**Yanlış Negatifler:** Kültürde  $10^4$  kob/mL ve/veya  $10^5$  kob/mL iki veya üç çeşit anlamlı bakteri üremesi olan 23 hasta ile  $10^3$  kob/mL bakteri üremesi veya maya üremesi olan (n:5) ve  $10^5$  kob/mL *Streptococcus* spp. ve nonfermenter Gram negatif basil üremesi olan (n:8) 13 hasta, MALDI-TOF MS sistemi ile tanımlanamayanlar.

MALDI-TOF MS ile tanımlanan ancak kültürde izole edilemeyen örnek mevcut olmayıp, yanlış pozitif sonuç tespit edilmemiştir.

Bununla birlikte çalışmaya alınan 152 idrar örneğinden rastgele seçilerek Gram boyama uygulanan 52 (%34) örnekte Gram boyamada tek tip morfolojide bakteri saptanırken deneysel olarak 100 (%66) tanesine Gram boyama uygulanmamıştır. 52

örneğin idrar kültürü sonuçlarına göre; 16 tanesinde tek tip Gram negatif basil, dokuz tanesinde iki veya üç çeşit  $10^5$  kob/mL anlamlı üreme olup, 21 tanesinde üreme olmamıştır. Üç tanesinin kültürü karışık bakteri üremesi nedeniyle kontaminasyon olarak çıkarılırken iki tanesinde  $10^4$  kob/mL Gram pozitif kok üremiştir. Bir kültürde ise  $10^3$  kob/mL bakteri üremesi olmuştur. Gram boyama yapılan ve yapılmayan örneklerde MALDI-TOF MS ekstraksiyon sonuçları Tablo 2’de verilmiştir. Buna göre; MALDI-TOF MS sistemi ile doğru pozitif tanımlanan 25 örnekte 10 tanesi, MALDI-TOF MS sistemi ile doğru negatif olarak tanımlanan 91 örnekte ise 24 tanesi Gram boyama yapılan gruptadır. İdrar örneklerinden MALDI-TOF MS sistemi ile tanımlama öncesinde Gram boyama yapılmasının test sonuçlarına etkisinin ortaya çıkarılması amacıyla istatistiksel analiz yapılmıştır. Buna göre Gram boyama uygulanan ve uygulanmayan örneklerde MALDI-TOF MS sonuçları istatistiksel anlamlı olarak farklı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Çalışmamızda,  $10^5$  tek çeşit bakteri üremelerinde MALDI-TOF MS sisteminin tanı performansı değerlendirildiğinde; duyarlılığı %76 olarak, özgüllüğü ise %100 olarak tespit edilmiştir (Tablo 3).

Kültürde  $10^5$  kob/mL tek çeşit bakteri üremesi olan 33 örneğin, direkt MALDI-TOF MS ile tanımlama sonuçları, kültür sonuçları ile karşılaştırıldığında; *Enterobacteriaceae*, *E. faecalis*, *S. aureus* ve *C. striatum*’da MALDI-TOF MS sisteminin tanımlama oranının yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 1).

**Tablo 1.** İdrar örneklerinden MALDI-TOF MS sistemi ile direkt bakteri tanımlanması yönteminin altın standart olan kültür metodu ile karşılaştırılması

|              |        | KÜLTÜR                     |                            |
|--------------|--------|----------------------------|----------------------------|
|              |        | Hasta                      | Sağlam                     |
| MALDI-TOF MS | Hasta  | Doğru Pozitifler (A)<br>25 | Yanlış Pozitifler (B)<br>0 |
|              | Sağlam | Yanlış Negatif (C)<br>36   | Doğru Negatif (D)<br>91    |
|              | Toplam | Toplam Hasta<br>(A+C):61   | Toplam Sağlam<br>(B+D): 91 |



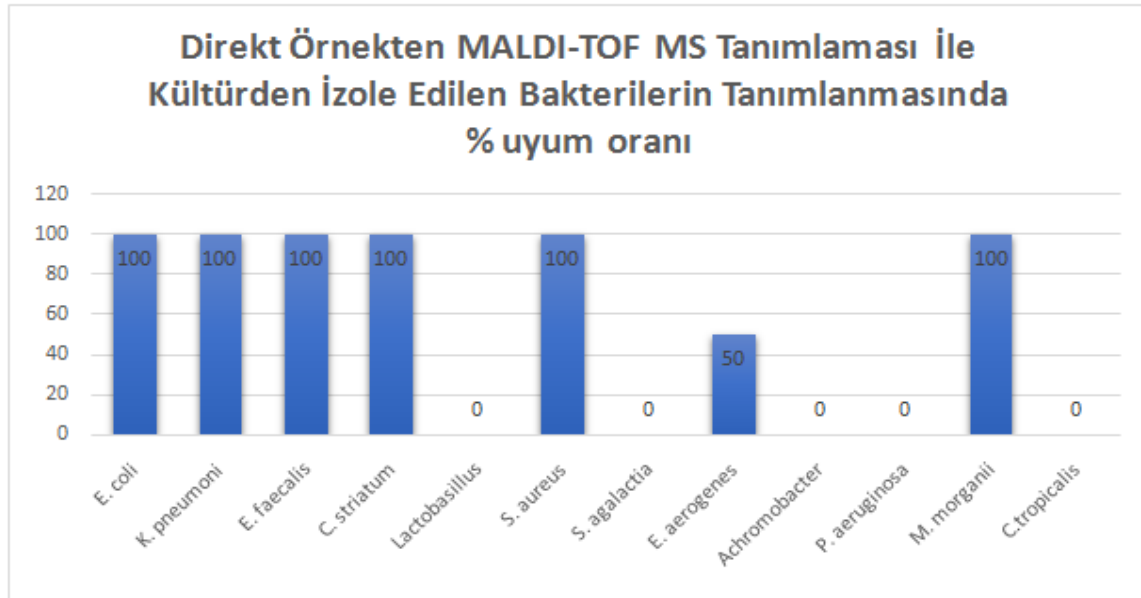
Tablo 2. Gram boyamanın MALDI-TOF MS sisteminin tanı performansı üzerine etkisi

|   | Gram boyama yapılan örnekler | Gram boyama yapılmayan örnekler |
|---|------------------------------|---------------------------------|
| MALDI-TOF MS ile doğru pozitif tanımlanan örnekler  | 10                           | 15                              |
| MALDI-TOF MS ile doğru negatif tanımlanan örnekler  | 24                           | 67                              |
| MALDI-TOF MS ile yanlış negatif tanımlanan örnekler | 18                           | 18                              |
| Toplam  | 52                           | 100                             |

Tablo 3. 10<sup>5</sup> tek çeşit bakteri üremelerinde MALDI-TOF MS sisteminin tanı performansı

|              | Duyarlılık | Özgüllük | PPD | NPD |
|--------------|------------|----------|-----|-----|
| MALDI-TOF MS | 76         | 100      | 100 | 74  |

PPD: Pozitif Prediktif Değer  
NPD: Negatif Prediktif Değer



Şekil 1. Direkt örnekten MALDI-TOF MS tanımlaması ile kültürden izole edilen bakterilerin MALDI-TOF MS ile tanımlanmasına göre uyum oranı (%)

Deneysel olarak MALDI-TOF MS'in düşük bakteriyel konsantrasyonlardaki güvenli tanımlama düzeyini belirlemek amacıyla; *E. coli* ve *E. faecalis* suşlarının  $1 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^5$ ,  $2 \times 10^5$ ,  $1,2 \times 10^5$ ,  $6 \times 10^4$ ,  $3 \times 10^4$  kob/mL dilüsyonları yapılarak MALDI-TOF MS ile tanımlama yapılmıştır. Buna göre; *E. coli* suşu,  $1 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^5$  ve  $2 \times 10^5$  kob/mL dilüsyonlarında, *E. faecalis* ise sadece  $1 \times 10^6$  kob/mL dilüsyonda yüksek düzey güven aralığında belirlenmiştir.

### TARTIŞMA

ÜSE erişkin kadınlarda ve erkeklerde bakteriyel enfeksiyonların en sık sebebi olup tüm yaş gruplarında görülebilmektedir (1). Standart kantitatif idrar kültürlerinin sonuçlanması iki-üç günlük bir zaman alır ve bu sürede klinisyenler sıklıkla antimikrobiyal tedavi başlarlar. Bu antibiyotikler çoğu vakada gereksiz, yetersiz veya gerektiğinden daha geniş spektrumlu mikroorganizmaları kapsayan niteliktedir (5). MALDI-TOF MS mikrobiyolojide rutinde sık olarak karşılaştığımız mikroorganizmaların hızlı ve kolay bir şekilde tanımlanmasını sağlayan yeni bir yöntem olup, klasik olarak mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılan konvansiyonel yöntemlere alternatif olarak karşımıza çıkmaktadır (6). Bu yöntem daha önceden 16S rRNA gen sekansı ile ayrılabilen yakın türlerin ayrımını bile başarıyla yapabilmektedir (7). Klinik örneklerden MALDI-TOF MS sistemi ile direkt bakteri tanımlanması, laboratuvardaki örneklerin alınmasından birkaç saat sonra klinik açıdan yararlı sonuçlar elde edilmesini sağladığı için gelecekte kullanışlı yöntemler arasında yerini alabilir (8). Hem laboratuvar sayısının hem de laboratuvarlara gelen örnek sayısının her geçen gün artması nedeniyle mikrobiyolojide de laboratuvar otomasyonuna doğru bir eğilim görülmektedir. MALDI-TOF MS basit, otomatize, kütle spektrofotometresinde özel deneyim gerektirmeyen, hızlı sonuç veren, yüksek işlem hacimli, ucuz bir sistemdir. Her laboratuvar, tanımda kullanılan bu sistemlerden kendine uygun olanını seçmekle, daha ekonomik ve doğru tanıya giderek hasta tedavisine katkıda bulunabilir (9). Yapılan çalışmalara göre idrar örneklerinden direkt tanımlama için mikrolitrede  $10^5$  kob/mL ve üzeri bakteri varlığı

gerekmektedir. Yeterli mikroorganizmanın bulunduğu örneklerde, önce yavaş sonrasında hızlı santrifüj yapılmak suretiyle etken mikroorganizmaların saflaşması sağlandıktan sonra direkt örnekten inceleme yapılabilir (10).

MALDI-TOF MS yöntemi ile klinik örneklerden doğrudan bakteri izolasyonu konusunda yapılan çalışmalara bakıldığında; Kohling ve ark. (11), tarafından ÜSE şüpheli ve bakteriyel yükü belirlenmemiş 107 idrar örneğinde, MALDI-TOF MS ile yapılan tanımlamada MALDI-TOF MS sisteminin duyarlılığını %60,4 olarak bulmuşlardır. Ayrıca MALDI-TOF MS'in performansı ile ilgili olarak ilginç bir olay tespit edilmiştir. Buna göre alfa defensin isimli peptitlerin idrarda bulunması bakteriyel pikleri baskılamakta ve idrar örneklerinden doğrudan tanımlamayı önlediği belirlenmiştir. Defensin olmaksızın yapılan testlerde ise MALDI-TOF MS sisteminin direkt idrardan tanımlama duyarlılığı %97,1 olarak tespit edilmiştir. İdrar örneklerinde doğrudan bakteri izolasyonu amacıyla yapılan başka bir çalışmada,  $10^5$  kob/mL tek çeşit bakteri içeren 220 idrar örneğinde MALDI-TOF MS yöntemi ile doğrudan %91,8 oranında tür düzeyinde, %92,7 oranında ise cins düzeyinde doğru tanımlama yapılabilmektedir (8). Çin'de yapılan bir çalışmada da idrar kültüründe tek tip  $10^5$  bakteri izole edilen örneklerde, MALDI-TOF MS yöntemi ile 430 adet direkt idrar örneklerinden 387 (%90)'unda doğru tanımlama, 44 adet kültürde iki tip  $10^5$  bakteri izole edilen örneklerde ise MALDI-TOF MS yöntemi ile direkt idrar örneklerinden 4 (%9)'unda iki tip bakteri, 20 (%45) örnekte ise iki bakteriden yalnızca biri tanımlanabilmiştir (12). Veron ve ark. (13), %78,9; Rosselló ve ark. (14), %90, İñigo ve ark. (15), ise %89,1 oranında idrar örneklerinden doğrudan MALDI-TOF MS sistemi ile duyarlılık bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada, MALDI-TOF MS sisteminin duyarlılığını %67, özgüllüğünü %100, negatif prediktif değerini (NPD) %94 ve pozitif prediktif değerini (PPD) %100 olarak bulunmuştur (16). Çalışmamızda da MALDI-TOF MS'in  $10^5$  tek çeşit bakteri üremelerinde duyarlılığı %76, özgüllüğü %100, PPD'i %100 ve NPD'i %74 olarak tespit edilmiştir. Sonuçlarımız çalışmalara uyumlu olduğu görülmüştür.

İdrar örneklerinde MALDI-TOF MS ile tanımlamanın yapılamadığı bazı çalışmalarda düşük bakteriüri sebebiyle oluşan çökeltinin yetersiz olmasından dolayı, MALDI-TOF MS sisteminin tanımlama sınırının altında olduğu düşünülmüş ve bu durumlar için tanı algoritmaları geliştirilmesi sonucuna varılmıştır (14). Bu nedenle yapılan bir çalışmada, idrar örneklerine Gram boyamayı takiben MALDI-TOF MS yöntemi uygulanmış, kültür sonucuna göre üç kısım derecelendirme yapılmıştır. Buna göre Gram boyama ve kültür sonucu %85,4 örnekte tam uyumlu, %4,6 örnekte kısmi uyumlu, %10 örnekte uyumsuz olarak bulunmuş ve Gram boyamada tek tip morfolojide görülen ve MALDI-TOF MS ile çalışılan örneklerde, %93 oranında doğru tanımlama sağlanmıştır (17). Çalışmamıza göre Gram boyamanın bakteriyel yükü belirlemek ve MALDI-TOF MS sisteminin tanı performansına etkisini araştırmak amacıyla rastgele seçtiğimiz örnekler iki gruba ayrılmış ve Gram boyama uygulanan ve uygulanmayan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p<0,001$ ). Buna göre Gram boyamanın bakteriyel yükü belirlediği ve MALDI-TOF MS sisteminin tanı performansına katkı sağladığı ve bu nedenle çalışmaya alınan örneklere Gram boyama yapılması gerektiği düşünülmüştür. Yine yapılan bir diğer çalışmada, doğrudan idrar örneklerine diafiltrasyon metodu ile birlikte MALDI-TOF MS sistemi beraber uygulanmış ve sonuçlar türler arasında farklılık göstermiştir. *E. coli*'de  $10^8$ ,  $10^7$  ve  $10^6$  kob/mL örneklerde güvenli ( $>2$ ),  $10^5$  kob/mL'de orta güven aralığında (1,8) tanımlama yapılabilirken, *Staphylococcus saprophyticus*'ta  $10^7$  kob/mL'de orta güven aralığında ve bunun altındaki miktarlarda ise güvenilir olmayan tanımlama ( $<1,7$ ) yapılmıştır. Viridans streptokoklarda ve koagülaz negatif stafilokok (KNS)'lerde ise  $10^5$  kob/mL'de tanımlama yapılamamıştır (16). MALDI-TOF MS güvenli tanımlama skorlamasının deneysel olarak bakteri türleri ve yükleri arasındaki farklılığı ortaya koymak amacıyla yapılan bir çalışmada; güvenilir tanımlama skoru için en az olması gereken bakteri yükü; *E. coli* için  $8 \times 10^4$  kob/mL, *P. aeruginosa* ve *E. faecalis* için ise  $1,2 \times 10^5$  kob/mL olarak belirlenmiştir (8). Deneysel olarak MALDI-TOF MS'in düşük bakteriyel konsantrasyonlardaki güvenli

tanımlama düzeyini belirlemek amacıyla yaptığımız çalışma sonucuna göre ise *E. coli* ve *E. faecalis* suşlarının  $1 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^5$ ,  $2,5 \times 10^5$ ,  $1,2 \times 10^5$ ,  $6 \times 10^4$ ,  $3 \times 10^4$ , kob/mL dilüsyonları yapılarak MALDI-TOF MS ile tanımlaması yapılmış ve *E. coli* suşu,  $1 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^5$  ve  $2,5 \times 10^5$  kob/mL dilüsyonlarında, *E. faecalis* ise sadece  $1 \times 10^6$  kob/mL dilüsyonda yüksek düzey güven aralığında tanımlanmıştır. Buna göre bu veriler ve MALDI-TOF MS ile tanımlanabilen bakterilerin kültür sonucuna göre uyum oranları göz önüne alındığında, idrardaki bakteriyel yükün Gram negatif bakterilerde en az  $>10^5$  kob/mL, *E. faecalis*, *S. aureus* ve *C. striatum*'da ise  $\geq 10^6$  kob/mL olması gerektiği düşünülmüştür.

Yine bazı çalışmalara göre bazı spesifik mikroorganizmaların MALDI-TOF MS sistemi ile klinik örneklerden doğrudan izolasyonu konusunda sorunlar belirtilmiştir. Doğrudan pozitif kan kültürlerinde yapılan çalışmalarda, protein ekstraksiyonu yapılsa bile mayaları tanımlama seviyesi düşüktür (18). Buna benzer bir durum streptokokları tanımlamak için de söylenmiştir (17,19). Bununla birlikte çalışmamızda, kültürde  $10^3$  kob/mL tek çeşit bakteri üremesi olan ve  $10^5$  kob/mL maya veya nonfermente Gram negatif basil veya *Streptococcus* spp. üremesi olan 13 örnek ve  $10^4$  ve/veya  $10^5$  kob/mL iki veya üç çeşit bakteri üremesi olan 23 örnek MALDI-TOF MS ile tanımlanamamıştır. Çalışma sonuçlarımıza ve yapılan çalışmalara bakıldığında, MALDI-TOF MS sisteminin nonfermente Gram negatif basil, *Streptococcus* spp. ve mayaların adlandırılmasında, tanımlamadan kaynaklanan bir sorun teşkil etmesi nedeniyle çok yeterli olmadığı gözlenmiştir.

Sonuç olarak; bu çalışmada MALDI-TOF MS yönteminin duyarlılığı  $10^5$  ve/veya  $10^6$  kob/mL tek çeşit Gram negatif bakteriüri olan örneklerde yüksek bulunurken, karışık veya  $10^3$  kob/mL ve altında bakteriüri veya candidüri olan örneklerde tanımlama yapılamamıştır. Bu nedenle, MALDI-TOF MS sistemi ile idrar örneğinden direkt bakteri tanımlama öncesinde Gram boyama uygulamasının etkinliği araştırılmış ve istatistiksel olarak ( $p<0,001$ ) MALDI-TOF MS sisteminin tanı performansına katkı sağladığı ve bu nedenle çalışmaya alınan örneklere Gram boyama yapılması

gerektiği kanaatine varılmıştır. Bu yöntem ile idrar kültüründe  $10^5$  kob/mL tek çeşit bakteri üremesi olan hastalarda klasik kültür yöntemi için harcanacak olan 24 saatlik süre yerine 2-3 saat içinde klinisyene

sonuç verilebilmekte olup, hastaya uygun antibiyotik tedavisinin başlanmasına katkı sağlayabilecektir. Ancak altın standart olan kültür yöntemiyle bu verilerin doğrulanması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Stamm WE, Norrby RS. Urinary tract infections: disease panorama and challenges. *J Infect Dis*, 2001;183: 1-4. doi: 10.1086/318850.
2. McIsaac WJ, Hunchak CL. Over estimation error and unnecessary antibiotic prescriptions for acute cystitis in adult women. *Med Decis Making*, 2011;31(3): 405-11. doi: 10.1177/0272989X10391671.
3. Deville WL, Yzermans JC, Van Duijn NP, Bezemer PD, Van der Windt DA, Bouter LM. Theurine dipstick test useful to rule out infections. A meta-analysis of the accuracy. *BMC Urol*, 2004; 4:4.
4. Seng P, Drancourt M, Gouriet F, LaScola B, Fournier PE, Rolain JM. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Infect Dis*, 2009; 49:543-51.
5. Sundqvist M, Kahlmeter G. Pre-emptive culturing will improve the chance of getting it right when empirical therapy of urinary tract infections fails. *J Antimicrob Chemother*, 2009; 64:227-8.
6. Yılmaz S, Duyan S, Artuk C, Diktaş H. Mikrobiyolojik tanılamada MALDI-TOF MS uygulamaları. *TAF Prev Med Bul*, 2014;13(5):421-6.
7. Wieser A, Schneider L, Jung J, Schubert S. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics identification of microorganisms and beyond. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012;93(3):965-74.
8. Ferreira L, Juanes F, Gonza'Lez-A'Vila M, Cembrero-Fucinos D, Herrero-Hernández A, Gonza'Lez B. Direct identification of urinary tract pathogens from urine samples by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*, 2010; 48(6):2110-5. Doi:10.1128/Jcm.02215-09.
9. Hasçelik G, Mikrobiyolojik tanıma yeni yöntemler. *Ankem Derg*, 2013;27(Ek 2):154-6.
10. Bizzini A, Greub G. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry, a revolution in clinical microbial identification. *Clin Microbiol Infect*, 2010;16(11):1614-9.
11. Kohling HL, Bittner A, Muller KD, Buer J, Becker M. Direct identification of bacteria in urine samples by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and relevance of defensins as interfering factors. *J Med Microbiol*, 2012; 61: 339-44.
12. Wang XH, Zhang G, FanYY, Yang X, Sui WJ, Lu XX. Direct identification of bacteria causing urinary tract infections by combining maldi-tof ms with uf 1000i urine flow cytometry. *J Med Microbiol*, 2013; 92 (3); 231 -5.
13. Veron L, Mailler S, Girard V, Muller BH, Hostis GL. Rapid urine preparation prior to identification of uropathogens by MALDI-TOF MS. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2015; 34(9):1787-95.
14. Rosselló GA, Rodríguez MP, Ortiz de Lejarazu LR. New procedure for rapid identification of microorganisms causing urinary tract infection from urine samples by massspectrometry (MALDITOF). *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2015;33(2):89-94. doi: 10.1016/j.eimc.2014.02.022.
15. Íñigo M, Coello A, Fernández-Rivas G, Rivaya B, Hidalgo J, Quesada MD, et al. Direct identification of urinary tract pathogens from urine samples, combining urine screening methods and matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*, 2016; 54(4): 988-93. doi: 10.1128/JCM.02832-15.
16. DeMarco M, Burnham C. Diafiltration MALDI-TOF mass spectrometry method for culture-independent detection and identification of pathogens directly from urine specimens. *Am J Clin Pathol*, 2014; 141(2): 204-12 doi: 10.1309/ajcpqyw3b6jlkilc.
17. Burillo A, Rodríguez-Sánchez B, Ramiro A, Cercenado E, Rodríguez Créixems M, Bouza E. Gram-stain plus MALDI-TOF MS (matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry) for a rapid diagnosis of urinary tract infection. *PLoSOne*, 2014; 9(1): e86915. [http://dx .doi.org/10.1371/journal.pone.0086915](http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0086915).
18. Rodríguez-Sánchez B, Sánchez-Carrillo C, Ruiz A, Marín M, Cercenado E, Rodríguez-Créixems M et al. Direct identification of pathogens from positive blood cultures using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight massspectrometry. *Clin Microbiol Infect*, 2014; 20(7):421-7. <http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12455>.
19. Loonen AJ, Jansz AR, Stalpers J, Wolffs PF, Van den Brule AJ. An evaluation of three processing method sand the effect of reduced culture times for faster direct identification of pathogens from BacT/ALERT blood cultures by MALDI-TOF MS. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2012; 31(7): 1575-83. doi: 10.1007/s10096-011-1480.

## Farklı klinik örneklerden izole edilen çoğul dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında tigesiklin ve kolistin dirençlerinin disk difüzyon, E-test ve otomatize sistem yöntemleri ile karşılaştırılması

Comparison of disc diffusion, E-test and automated system methods for the determination of resistances to tigecycline and colistin by multiple resistant *Acinetobacter baumannii* isolates which isolated from different samples

Nuriye İsmihan Ece PAKÖZ<sup>1</sup>, Esra KAYA<sup>2</sup>, Zarife ORHAN<sup>3</sup>, Arzu KAYIŞ<sup>3</sup>, Murat ARAL<sup>2</sup>

### ÖZET

**Amaç:** *Acinetobacter* türleri doğada yaygın olarak bulunan Gram negatif kokobasillerdir. Hastane enfeksiyonlarına ve toplumsal kaynaklı enfeksiyonlara yol açabilen bu bakterinin tedavisinde kullanılan antibiyotik seçeneklerinin giderek azalması endişe yaratmaktadır. Son yıllarda özellikle yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere hastane enfeksiyonlarında en sık izole edilen etkenlerin başında *A. baumannii* suşları gelmektedir. Çoğul antimikrobiyal direnç, polimiksinler gibi eski ve tigesiklin gibi yeni antibiyotiklerin araştırılıp geliştirilmesini zorunlu kılmıştır. Gram negatif bakterilerde gelişen çoğul direnç fenotipleri nedeniyle polipeptit yapıları bir antibiyotik olan kolistin (polimiksin E) önemi tekrar artmaya başlamıştır. Ancak, ülkemizde çoğul dirençli suşlara karşı bu antibiyotiğin etkinliğini bildiren çalışma sayısı oldukça kısıtlıdır. Tigesiklin, *A. baumannii*'nin de içinde bulunduğu dirençli Gram negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde ümit veren yeni, yarı sentetik bir tetrasiklidir.

**Yöntem:** Çalışmamız, Şubat 2011 - Şubat 2012 tarihleri arasında Kahramanmaraş Üniversitesi Tıp

### ABSTRACT

**Objective:** *Acinetobacter* spp., Gram negative coccobacilli, are widely found in nature. The decrease in treatment options against this organism which can lead nosocomial and community-acquired infections is a concern. In recent years, *A. baumannii* strains are among the most frequently isolated organisms in hospital infections, especially intensive care units. Multiple antimicrobial resistance has forced to be explored and improved antibiotics such as tigecycline and polymyxins (antibiotics such as tigecyclines (new) and polymyxins (old)). Due to the multiple resistance phenotypes that developed in Gram negative bacteria, the importance of colistin (polymyxin E), an antibiotic with a polypeptide structure, has begun to increase. However, the number of studies reporting the efficacy of this antibiotic against multiple-resistant strains is rather limited in our country. Tigecycline is a new, semisynthetic tetracycline that promises to treat infections caused by resistant Gram negative bacteria, including *A. baumannii*.

**Methods:** Our study was carried out with 100 multiple-resistant *A. baumannii* strains isolated

<sup>1</sup>Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş

<sup>2</sup>Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Kahramanmaraş

<sup>3</sup>Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Kahramanmaraş



İletişim / Corresponding Author : Esra KAYA

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Kahramanmaraş - Türkiye  
Tel : +90 555 768 32 64 E-posta / E-mail : esra\_ytn@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 09.01.2017  
Kabul Tarihi / Accepted : 16.02.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.13334

PAKÖZ NİE, KAYA E, ORHAN Z, KAYIŞ A, ARAL M. Farklı klinik örneklerden izole edilen çoğul dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında tigesiklin, kolistin direncinin disk difüzyon, E-test ve otomatize sistem yöntemleri ile karşılaştırılması. Türk Hij Den Biyol Derg, 2018; 75(2): 109-116

Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına çeşitli kliniklerden gönderilen farklı örneklerden soyutlanan 100 adet çoğul dirençli *A. baumannii* izolatı ile yapılmıştır. Bakterilerin tanımlanması konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemler ve tam otomatik bakteri tanımlama sistemi Vitek-2 (bioMérieux, Fransa) kullanılarak yapılmıştır. Çoğul dirençli olduğu saptanan 100 *A. baumannii* suşunun kolistin ve tigesikline karşı duyarlılıkları Vitek-2 (bioMérieux Fransa), disk difüzyon ve E-test yöntemleriyle test edilmiştir.

**Bulgular:** Sonuç olarak disk difüzyon yöntemi ile test edilen çoğul dirençli suşların %88'i kolistine, %84'ü tigesikline duyarlı bulunmuştur. Vitek-2 (bioMérieux Fransa) yöntemi ile test edilen çoğul dirençli suşların ise %100'ü kolistine, %92'si ise tigesikline duyarlı bulunurken; E-test yöntemi ile tigesiklin ve kolistine %100 duyarlılık tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Disk difüzyon, E test ve otomatize sistem yöntemlerinin birbirleri ile uyumunu karşılaştırdığımızda; E test ve otomatize sistem sonuçlarının disk difüzyona göre daha uyumlu olduğu gözlenmiştir. Kolistin ve tigesiklinin *A. baumannii*'ye karşı etkinliği oldukça yüksek bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Acinetobacter baumannii*, tigesiklin, kolistin, disk difüzyon, E-test, otomatize sistem

from different samples sent from different clinics to Kahramanmaraş University, Medical Faculty Hospital, Medical Microbiology Laboratory between February 2011 and February 2012. Identification of the bacteria was carried out using conventional microbiological methods and a fully automated bacterial identification system Vitek 2 (bioMérieux, France). Sensitivities of 100 multidrug resistant *A. baumannii* strains to colistin and tigecycline were tested by Vitek 2 (bioMérieux, France), disc diffusion and E-test methods.

**Results:** As a result, 88% of the multiple-resistant strains tested by disk diffusion method were found to be sensitive to colistin and 84% to tigecycline. While 100% of the multi-resistant strains tested by Vitek 2 (bioMérieux, France) were found to be sensitive to colistin and 92% to tigecycline; 100% sensitivity to tigecycline and colistin was detected by E-test method.

**Conclusion:** When we compared the compatibility of disc diffusion, E-test and automated system methods with each other, E-test and automated system results were observed to be more compatible than disc diffusion method. The effectiveness of colistin and tigecycline against *A. baumannii* was found to be quite effective.

**Key Words:** *Acinetobacter baumannii*, tigecycline, colistin, disc diffusion, E-test, automated system

## GİRİŞ

Mikroorganizmalar yeryüzünün en eski canlılarıdır. Bunun en önemli nedeni değişen yaşam koşullarına hızla uyum sağlayabilme yetenekleridir. Bu yetenekleri sayesinde kendilerine karşı geliştirilen her yeni antibiyotikten kaçacak bir yol bulmaktadırlar. Sonuçta, enfeksiyonlarla savaşta en önemli engel olan antibiyotiklere direnç sorunu ortaya çıkmaktadır (1). *Acinetobacter* türleri, 1939 yılında Debord'un Gram negatif kokobasilleri üretral örnekten izole etmesi ile tanımlanmıştır (2). *Acinetobacter* cinsi *Moraxellaceae* familyası içinde sınıflandırılmakta ve

hareketsiz, oksidaz negatif, Gram negatif kokobasil bakterilerden oluşmaktadır (3). *Acinetobacter* türleri çevresel olarak toprak, su ve atık sularda, daha önemlisi hastane ortamı florasında bulunabilirler. İnsanda ise derinin bakteriyel florasında özellikle aksilla, kasık, tırnak gibi nemli bölgelerde bulunmakla beraber oral kavite ve solunum yolunda da bulunabilmektedirler (4). *Acinetobacter* türleri arasında en sık ve en önemli klinik tablolara yol açan etken *A. baumannii*'dir (5).

A. *baumannii* suşlarına bağlı enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antimikrobiyal ajanlara karşı giderek artan direnç dünyada olduğu gibi 1980'li yıllardan itibaren ülkemizde de önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir ve hastane enfeksiyonlarında çoğul dirençli etken olarak izole edilmeye başlamıştır (6). A. *baumannii*'de diğer bir sorun da multi-drug resistant (çoğul ilaçlara direnç) (MDR) ve pan-drug resistant (tüm ilaçlara direnç) (PDR) tanımlamalarıyla ilgili sorundur. A. *baumannii*'de MDR terimi ile ilgili olarak bugün standart bir tanımlama yoktur. Kökenin tedavisinde kullanılan kinolon, sefalosporin ve karbapenem gibi antibiyotik sınıflarından üçüne veya daha fazlasına direnç göstermesi durumunda MDR terimi kullanılır. Test edilen standart antimikrobiyal ajanların kolistin dışında tümüne dirençli olan A. *baumannii* suşlarında panrezistan terimi kullanılmış, ancak bu tanımlamalarla ilgili olarak çok çeşitli varyasyonlar da bulunmuştur (7-9). Yöntemlerin birbiri ile uyumu ise; her iki yöntemle de duyarlı bulunan izolat sayılarının toplamının, toplam izolat sayısına bölündükten sonra, sonucun 100 ile çarpılması yöntemi ile belirlenmiştir.

Yaptığımız çalışmada; çeşitli yöntemlerle çoğul dirençli olduğu belirlenen 100 adet A. *baumannii* izolatının tigesikline ve kolistine karşı duyarlılıklarının disk difüzyon, E-test ve otomatize sistem ile belirlenmesi ve buna bağlı olarak hangi yöntemin daha duyarlı sonuçlar verdiğinin araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Şubat 2011-Şubat 2012 tarihleri arasında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 100 adet çoğul dirençli A. *baumannii* izolatları ile yapılmıştır. Bakterilerin tanımlanması için Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerin %5 Koyun Kanlı agar ve EMB (Eozin Metilen Blue) agar besiyerlerine ekimleri yapılmıştır.

Besiyerinde saf olarak üreyen Gram negatif, aerob, hareketsiz, diplokok ya da kokobasil morfoljisinde, katalaz pozitif, oksidaz negatif, glukoz ve laktozu fermante etmeyen bakteriler, A. *baumannii* şüphesiyle ileri tanımlama testlerine alınmıştır. Bakteriler daha sonra otomatize Vitek-2 (bioMérieux, Fransa) tanımlama sistemi ile tanımlanmıştır.

Vitek-2 (bioMérieux, Fransa) sistemi, MİK (minimum inhibitör konsantrasyonu) değerini tespit edebilen, kolorometrik, bilgisayar destekli bir yöntemdir. Vitek-2 (bioMérieux, Fransa), AST-N262 (bioMérieux,Fransa) kartları amikasin, ampisilin/sulbaktam, sefepim, sefaperazon/sulbaktam, seftazidim, siprofloksasin, gentamisin, imipenem, levofloksasin, meropenem, netilmisin, piperasilin, piperasilin/tazobaktam, tetrasiklin, trimethoprim/sulfametoksazol, kolistin ve tigesiklin duyarlılığını test etmektedir.

Disk difüzyon yönteminde ise bakterilerin antibiyotiklere karşı duyarlılığı Kirby - Bauer disk difüzyon tekniği ile Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü Ocak-2011 doküman M02 ve M07 önerileri dikkate alınarak Mueller-Hinton agar besiyerinde yapılmıştır (10). Elde edilen sonuçlar, Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) kriterlerine göre Tablo 1' de belirtildiği şekilde duyarlı (S), orta duyarlı (I) veya dirençli (R) olarak yorumlanmıştır.

**Tablo 1.** Tigesiklin ve kolistin dirençlerinin FDA kriterlerine göre belirlenen zon çapları

| Antibiyotik | Duyarlı (S) mm | Orta Duyarlı (I) mm | Dirençli (R) mm |
|-------------|----------------|---------------------|-----------------|
| Tigesiklin  | ≥19            | 15-18               | ≤14             |
| Kolistin    | ≥13            | 11-12               | ≤11             |

Disk difüzyon yöntemi ile çoğul dirençli olarak değerlendirilen A. *baumannii* izolatlarının kolistin ve tigesikline duyarlılıklarının MİK düzeyinde saptanması için E-test (Liofilchem, İtalya) yöntemi kullanılmıştır. Kolistin için elde edilen MİK değerleri, CLSI'nın önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir. Buna göre E-test striplerinin inhibisyon elipsleri ile kesiştiği noktalardaki MİK değeri ≥4 µg/mL olduğunda dirençli,

$\leq 2$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  olduğunda duyarlı olarak değerlendirilmiştir. Tigesiklin için CLSI standartları olmadığından FDA standartları kriter alınmıştır. Tigesiklin için E-test MİK değeri FDA kriterlerine göre;  $\geq 8$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  ise dirençli, 4-6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ise orta derecede duyarlı ve  $\leq 2$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  ise duyarlı olarak değerlendirilmiştir.

En az üç antibiyotik sınıfının tipik antibiyotiklerine dirençli olan *A. baumannii* izolatları çoğul dirençli *A. baumannii* olarak tanımlanmıştır. Bu amaçla kullanılan antibiyotik sınıfları; aminoglikozidler (gentamisin, amikasin, tobramisin), antipseudomonal penisilinler (piperasilin, tikarsilin), karbapenemler (imipenem, meropenem), sefalosporinler (sefepim, seftazidim, seftriakson, sefotaksim), kinolonlar (siprofloksasin, levofloksasin) ve buna ek olarak kolistin, ampisilin/sulbaktam ve/veya tetrasiklinlerdir (tetrasiklin, doksisisiklin). Yukarıda sayılan antibiyotik sınıflarından en az üçüne dirençli olan *A. baumannii* izolatları çoğul dirençli *A. baumannii* olarak tanımlanmıştır. Bu suşların kolistin ve tigesikline karşı antimikrobiyal duyarlılıkları E test ve disk difüzyon yöntemleri yapılarak araştırılmıştır.

## BULGULAR

Çalışmamızda, hastanemizde izole edilen çoğul dirençli *A. baumannii* suşlarının izole edildiği numuneler ve gönderildikleri kliniklere göre dağılımı Tablo 2 ve Tablo 3'te verilmiştir.

**Tablo 2.** *A.baumannii* suşlarının izole edildiği örneklerin dağılımı

| Örnek tipi | Örnek sayısı | %  |
|------------|--------------|----|
| Balgam     | 48           | 48 |
| Kan        | 24           | 24 |
| Yara       | 16           | 16 |
| İdrar      | 12           | 12 |

Çalışmamızda, çoğul dirençli *A. baumannii* izolatlarının antibiyogram sonuçları Tablo 4'te gösterilmiştir.

Çoğul dirençli 100 *A. baumannii* suşunun tigesikline duyarlılığı disk difüzyon yöntemine göre

**Tablo 3.** *A.baumannii* suşlarının izole edildiği örneklerin gönderildikleri kliniklere göre dağılımı

| Klinik                  | Hasta Sayısı (n:100) | %   |
|-------------------------|----------------------|-----|
| Cerrahi Yoğun Bakım     | 50                   | 50  |
| Anestezi                | 14                   | 14  |
| Nefroloji               | 10                   | 10  |
| Üroloji                 | 6                    | 6   |
| Çocuk Hastalıkları      | 4                    | 4   |
| Enfeksiyon Hastalıkları | 4                    | 4   |
| Göğüs Hastalıkları      | 4                    | 4   |
| Kardiyoloji             | 2                    | 2   |
| Kalp Damar Cerrahisi    | 2                    | 2   |
| Kadın Doğum             | 2                    | 2   |
| Onkoloji                | 2                    | 2   |
| Toplam                  | 100                  | 100 |

%84, otomatize sisteme göre %92 ve E-test yöntemine göre %100 olarak bulunmuştur. Kolistin duyarlılığı ise kolistin molekülünün büyük olması sebebiyle iyi difüze olamadığından disk difüzyon yöntemi ile çalışılmamıştır. Kolistin duyarlılığı hem otomatize sisteme göre hem de E-test yöntemine göre %100 olarak bulunmuştur (Tablo 5).

*A. baumannii* suşlarında tigesiklin ve kolistin duyarlılıklarını saptama durumu incelenmiştir. Yöntemlerin birbiri ile uyumu; her iki yöntemle de duyarlı bulunan suş sayılarının toplamının, toplam suş sayısına bölündükten sonra sonucun 100 ile çarpılması yöntemi ile belirlenmiştir. Buna göre tigesiklin için, E-test yöntemi ve Vitek-2 (bioMérieux, Fransa) yöntemi ile belirlenen sonuçların %96'sı uyumluyken, E-test ve disk difüzyon yöntemleri %92, Vitek-2 (bioMérieux, Fransa) ve disk difüzyon yöntemleri ise %88 oranında uyumlu bulunmuştur. Kolistin duyarlılığı için belirlenen sonuçların birbirine uyumu karşılaştırıldığında ise E-test ve Vitek-2 (bioMérieux, Fransa) yöntemleri %100 uyumluyken, E-test ve disk



difüzyon yöntemlerinin birbiriyle uyumu %94, Vitek-2 %94 oranında uyumlu olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar (bioMérieux, Fransa) ve disk difüzyon yöntemleri ise Tablo 6'da gösterilmiştir.

**Tablo 4.** *A.baumannii* suşlarının otomatize sistem yöntemi ile belirlenen direnç durumları

| Antibiyotik                 | Duyarlı (S) |     | Orta Duyarlı (I) |    | Dirençli (R) |     |
|-----------------------------|-------------|-----|------------------|----|--------------|-----|
|                             | N           | %   | N                | %  | N            | %   |
| Piperasilin                 | -           | -   | -                | -  | 100          | 100 |
| Ampisilin/Sulbaktam         | -           | -   | -                | -  | 100          | 100 |
| Seftazidim                  | -           | -   | -                | -  | 100          | 100 |
| Sefepim                     | -           | -   | -                | -  | 100          | 100 |
| İmipenem                    | -           | -   | -                | -  | 100          | 100 |
| Meropenem                   | -           | -   | -                | -  | 100          | 100 |
| Amikasin                    | 16          | 16  | 3                | 3  | 81           | 81  |
| Gentamisin                  | 4           | 4   | 23               | 23 | 73           | 73  |
| Netilmisin                  | 16          | 16  | 29               | 29 | 55           | 55  |
| Sefoperazon/Sulbaktam       | 4           | 4   | 16               | 16 | 80           | 80  |
| Siprofloksasin              | -           | -   | -                | -  | 100          | 100 |
| Levofloksasin               | -           | -   | -                | -  | 100          | 100 |
| Tetrasiklin                 | 20          | 20  | -                | -  | 80           | 80  |
| Tigesiklin                  | 92          | 92  | 8                | 8  | -            | -   |
| Kolistin                    | 100         | 100 | -                | -  | -            | -   |
| Trimetoprim/Sulfametoksazol | 44          | 44  | -                | -  | 56           | 56  |

**Tablo 5.** Çoğul dirençli *A.baumannii* suşlarının tigesiklin ve kolistin duyarlılıklarının disk difüzyon, otomatize sistem ve E-test yöntemine göre durumu

|            | Disk Difüzyon (%) |              |          | Vitek-2 (%) |              |          | E-test (%) |              |          |
|------------|-------------------|--------------|----------|-------------|--------------|----------|------------|--------------|----------|
|            | Duyarlı           | Orta duyarlı | Dirençli | Duyarlı     | Orta duyarlı | Dirençli | Duyarlı    | Orta duyarlı | Dirençli |
| Tigesiklin | 84                | 16           | -        | 92          | 8            | -        | 100        | -            | -        |
| Kolistin   | -                 | -            | -        | 100         | -            | -        | 100        | -            | -        |

**Tablo 6.** *A.baumannii* suşlarında tigesiklin ve kolistin duyarlılıklarını saptama durumu

|               | TİGESİKLİN<br>Duyarlı sayı/ Toplam sayı | KOLİSTİN<br>Duyarlı sayı/ Toplam sayı |
|---------------|---|---------------------------------------|
| E-TEST        | 100 / 100 (100)                         | 100/100 (100)                         |
| VİTEK-2       | 92/100 (92)                             | 100/100 (100)                         |
| Disk difüzyon | 84/100 (84)                             | -                                     |

## TARTIŞMA

*Acinetobacter* türleri aerob, oksidaz negatif, Gram negatif kokobasillerdir. Saprofit olarak her yerde; doğada ve hastane ortamında bulunur ve mekanik solunum cihazları gibi nemli yüzeylerde, deri gibi kuru yüzeylerde (Gram negatif bakteriler için nadir rastlanır) yaşayabilirler (11). Bunlar içerisinde en sık izole edilen köken *A. baumannii*'dir. *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde en önemli problem çoğul dirençli kökenlerin sayısında artma ve bunun sonucunda tedavide kullanılacak antibiyotik seçeneklerinde azalmadır (12,13).

Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda, *A. baumannii*'nin izole edildiği klinikler çeşitlilik göstermektedir. Kurtoğlu ve ark.'nın çalışmasında (14), 2008-2010 senelerinde *A. baumannii* suşlarının en sık izole edildiği birim yoğun bakım ünitesi olduğu (%65) ve bunu plastik cerrahi (%7) ve göğüs hastalıkları (%6) takip ettiği belirlenmiştir. Sesli-Çetin ve ark.'nın yaptığı çalışmada (15), *A. baumannii* suşları en sık yoğun bakım ünitesinden izole edilmiş ve bunu da beyin cerrahisi ve ortopedi servisleri takip etmiştir. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yapılan bir çalışmada da izolatların çoğunluğu (%55,5) yoğun bakımlardan izole edilmiştir. Yoğun bakım servisleri arasında en fazla (%38,7) anestezi-reanimasyon yoğun bakım ünitesinden izolasyon yapılmıştır (16). Çalışmamızda, çoğul dirençli *A. baumannii* suşları en sık cerrahi yoğun bakım (%50) ünitesinde yatan hastalardan izole edilmiştir. Bunu %14 oranla anestezi ve reanimasyon ve %10 oranla nefroloji servisleri takip etmiştir. Ayrıca çoğul dirençli *A. baumannii* %6 ürolojiden, %4 kardiyoloji, enfeksiyon hastalıkları ve göğüs hastalıklarından, %2 kardiyoloji, kalp damar cerrahi, kadın doğum ve onkolojiden gönderilen örneklerden izole edilmiştir.

*Acinetobacter* suşlarının izole edildiği örneklerin dağılımı çeşitli çalışmalarda farklılıklar göstermiştir. Villers ve ark. (17), *Acinetobacter* türlerinin sıklıkla solunum sistemi, üriner sistem, yara yeri, santral sinir sistemi ve sepsis sebebiyle kan dolaşım yolu

enfeksiyonuna neden olduklarını ortaya koymuştur. Balcı ve ark.(18)'nin yaptığı çalışmada, *A. baumannii* %43 solunum sistemi, %24 yara materyali, %14 idrar, %11 kan, %6 beyin omurilik sıvısı ve %1 kateter örneklerinden izole edilmiştir. Çalışmamızda ise balgam örneklerinden %48, kan örneklerinden %24, yara örneklerinden %16 ve idrar örneklerinden de %12 oranında çoğul dirençli *A. baumannii* suşları izole edilmiştir. Yapılan başka çalışmalarla uyumlu olarak *A. baumannii* suşlarının solunum sistemi örneklerinden daha sık izole edildiği görülmüştür.

Kolistin için CLSI standartları henüz bildirilmemiştir. Colorado Association of Stormwater and Floodplain Managers (CA-SFM)'a göre kolistin için MİK düzeyine göre duyarlılık sınırları MİK  $\leq 1$   $\mu\text{g/L}$  olduğunda duyarlı, MİK  $> 2$   $\mu\text{g/L}$  olduğunda dirençli olarak kabul edilmiştir. Arıkan-Akan ve ark. (19)'nın yaptığı çalışmada, çoğul dirençli *A. baumannii* suşlarında kolistine karşı direnç saptanmamıştır. Kurtoğlu ve ark. (14)'nin yaptığı çalışmada 2008 yılında kolitsine karşı direnç saptanmamışken, 2009 senesinde %6 direnç belirlenmiştir. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yapılan bir çalışmada, otomatize sistem ile kolistine karşı direnç saptanmamıştır(1). Hastanemizde yapılan diğer çalışmalara uygun olarak çoğul dirençli *A. baumannii* suşlarında otomatize sistem ile yapılan çalışmada, kolistine karşı direnç saptanmamıştır. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde çoğul dirençli *A. baumannii* suşlarıyla yapılan çalışmada, disk difüzyon yöntemi ile kolistine direnç saptanmamıştır(1). Çalışmamızda da disk difüzyon yöntemi ile çoğul dirençli *A. baumannii* suşlarında kolistine %88 duyarlılık saptanmıştır. E-test, çeşitli mikroorganizmaların antimikrobiyal duyarlılıklarını basit ve hassas olarak tespit edebilen alternatif bir duyarlılık yöntemi olarak kabul edilmiş, ancak *A. baumannii* suşlarının kolistin duyarlılık testi için bu yöntem hakkında herhangi bir deneyim henüz bildirilmemiştir (20). Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yapılan çalışmada, test edilen *Acinetobacter* izolatlarının E-test yöntemi ile %100'ü kolistine duyarlı bulunmuştur (1). Çalışmamızda

da çoğul dirençli *A. baumannii* suşlarının %100'ü kolistine duyarlı bulunmuştur.

Tigesiklin için ise hastanemizdeki kullanılan Vitek-2 (bioMérieux, Fransa) otomatize sisteminde tigesiklin duyarlılık oranları FDA'ya göre belirlenmiştir. Çalışmamızda, çoğul dirençli *A. baumannii* suşları tigesikline %92 oranında duyarlı olarak tespit edilmiştir. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yapılan çalışmaya göre disk difüzyon yöntemi ile çoğul dirençli *A. baumannii* suşlarının %87,3'ü tigesikline duyarlı bulunmuştur (1). Çalışmamızda ise çoğul dirençli *A. baumannii* suşları disk difüzyon yöntemi ile tigesikline %84 oranında duyarlı bulunmuştur. Navon-Venezia ve ark. (21), 82 *A. baumannii* suşunu tigesiklin açısından E-test ile değerlendirdiklerinde, %66 oranında direnç tespit etmişlerdir. Akıncı ve ark. (22), *A. baumannii*'ye karşı tigesiklinin aktivitesini ölçtükleri çalışmada, E-test ile %80,6 oranında duyarlılık bildirmişlerdir. Çalışmamızda da çoğul dirençli *A. baumannii* suşları E-test yöntemiyle tigesikline %100 duyarlı bulunmuştur.

Çalışmamızda değerlendirilmeye alınan 100 çoğul dirençli *A. baumannii* suşunda Vitek-2 (bioMérieux, Fransa), disk difüzyon ve E-test yöntemleri ile yapılan kolistin duyarlılık testlerinde Vitek-2 (bioMérieux, Fransa) ve E-test yöntemlerinde %100, disk difüzyon

yönteminde %88 duyarlılık saptanmıştır. Bu üç yöntemle belirlenen tigesiklin duyarlılık oranları ise Vitek-2 (bioMérieux, Fransa) için %92, disk difüzyon için %84 ve E-test için %100 olarak bulunmuştur. Kolistin çalışmamızda da diğer çalışmalara benzer şekilde tüm antibiyotikler içinde çoğul dirençli *A. baumannii*'ye en etkili antibiyotik olduğu görülmüştür. Bu yöntemlerin birbiri ile uyumu istatistiksel olarak analiz edildiğinde ise E-test ve Vitek-2 (bioMérieux, Fransa) yöntemlerinde belirlenen duyarlılık oranlarının daha uyumlu olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, çalışmamız ile hastanemizdeki çeşitli servislere yatan hastalardan soyutlanan çoğul dirençli *A. baumannii* suşlarına karşı kolistin ve tigesiklin yüksek oranda duyarlı bulunmuştur. Bu nedenle çoğul dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılacak antibiyotiklerin dikkatli seçilmesi ve ampirik antibiyotik kullanımına dikkat edilmesi gerektiği düşünülmektedir. Aynı zamanda tigesiklin ve kolistin gibi çoğul dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılacak olan antibiyotiklerin belirlenmesinde, E-test ve otomatize sistem yöntemlerinin daha uyumlu sonuçlar vererek tedavide daha etkili olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Özgür Akın FE. Çoğul dirençli *A. baumannii* izolatlarında kolistin, polimiksin B ve tigesiklin direncinin E-test, disk difüzyon ve buyyon mikrodifüzyon yöntemleri ile karşılaştırması. Uzmanlık Tezi, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2009.
- Schreckenberger PC, Von Graevenitz A. *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*. In: Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington DC: ASM Press, 2000: 749-60.
- Garrity GM, Bell JA, Lilburn TG. Taxonomic Outline of The Prokaryotes. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd ed. New York: Springer-Verlag, 2004.
- Munoz-Price L, Weinstein R. *Acinetobacter* infection. *N Engl J Med*, 2008; 358:1271-81. doi: 10.1056/NEJMra070741.
- Speller DCE, Humphreys H. Hospital-acquired infection. In: Collier L, Balows A, Sussman M, eds. *Microbiology and Microbial Infections*. London: Arnold, 1998: 187-229.
- Demirtürk N, Demirdal T. Antibiyotiklerde direnç sorunu. *Kocatepe Tıp Derg*, 2004; 5(2):17-21.
- Falagas ME, Koletsis PK, Bliziotis IA. The diversity of definitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Med Microbiol*, 2006; 55:1619-29.

8. Kwon KT, Oh WS, Song JH, Chang HH, Jung SI, Kim SW, et al. Impact of imipenem resistance on mortality in patients with *Acinetobacter* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother*, 2007; 59(3):525-30.
9. Hsueh PR, Teng LJ, Chen CY, Chen WH, Yu CJ, Ho SW, et al. Pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* causing nosocomial infections in a university hospital, Taiwan. *Emerg Infect Dis*, 2002; 8(8):827-32.
10. Anonymous. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. M100-S21. Vol. 31. No 5. Wayne, Pa: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011.
11. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Tıbbi Mikrobiyoloji. Başustaoğlu AÇ, ed. Ankara: Atlas Kitapçılık, 2010; 199-210.
12. Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev*, 1996; 9(2):148-65.
13. Towner K. The genus *Acinetobacter*. *Prokaryotes*, 2006; 6:746-58.
14. Kurtoğlu MG, Opuş A, Kaya M, Keşli R, Güzelanlat A, Yüksekaya Ş. Bir eğitim ve araştırma hastanesindeki klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında antibakteriyel direnç (2008-2010). *ANKEM*, 2011; 25(1):35-41.
15. Sesli Çetin E, Tetik T, Kaya S, Cicioğlu- Ardoğan B. Polimiksin B'nin imipeneme dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarına karşı in-vitro aktivitesi. *ANKEM*, 2011; 25(2):94-8.
16. Çalışkan A. *Acinetobacter*lerde direnç ve klonal ilişkinin araştırılması. Uzmanlık tezi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi. 2008.
17. Villers D1, Espaze E, Coste-Burel M, Giauffret F, Ninin E, Nicolas F, et al. Nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections: microbiological and clinical epidemiology. *Ann Intern Med*, 1998; 129(3):182-9.
18. Balcı M, Bitirgen M, Kandemir B, Türk Arıbaş, E, Erayman İ. Nozokomiyal *A. baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılığı. *ANKEM*, 2010; 24(1): 28-33.
19. Arıkan Akan Ö, Uysal S. Çoklu dirençli *Acinetobacter baumannii* ve karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında tigesiklinin in vitro etkinlik durumu. *Mikrobiyoloji Bül*, 2008; 2: 209-15.
20. Richet H, Fournier PE. Nosocomial Infections caused by *Acinetobacter baumannii*: a major threat worldwide. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2006; 27:759-61.
21. Navon Venezia S, Ben Ami R, Carmeli Y. Update on *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections in the healthcare setting. *Curr Opin Infect Dis*, 2005; 8:306-13.
22. Akıncı E, Mumcuoğlu İ, Öngörü P, Bayazit FN, Ersoy S, Erbay A, et al. In vitro activity of tigecycline against *Acinetobacter baumannii* strains isolated from nosocomial infections. *Turk J Med Sci*, 2008; 38(6):583-6.

# The first external quality assurance laboratory proficiency assessment study of national antimicrobial resistance surveillance system in Turkey

## Türkiye'deki ulusal antimikrobiyal direnç sürveyans sisteminin ilk dış kalite güvencesi laboratuvar yeterlilik değerlendirmesi

Nilay ÇÖPLÜ<sup>1</sup>, Zeynep GÜLAY<sup>2</sup>, Fehminaz TEMEL<sup>3</sup>, Hüsnüye ŞİMŞEK<sup>4</sup>, Neşe GÖL<sup>4</sup>, Dilber AKTAŞ<sup>3</sup>, Gülçin BAYRAMOĞLU<sup>5</sup>, Cüneyt ÖZAKIN<sup>6</sup>, Mete EYİĞÖR<sup>7</sup>, Duygu PERÇİN<sup>8</sup>, Kezban GÜRDOĞAN<sup>4</sup>, Murad BAYRAM<sup>9</sup>

### ABSTRACT

**Objective:** National Antimicrobial Resistance Surveillance System (NAMRSS) was established aiming to determine and track the percentage of antimicrobial resistance in Turkey, and in order to assure the reliability of the system, an external quality assurance laboratory proficiency assessment was performed in September 2011, for the first time.

**Methods:** Four bacterial strains were sent to 77 participating laboratories. The laboratories were asked to perform the bacterial identification and antimicrobial susceptibility tests (AST) according to standard operating procedures of NAMRSS and Clinical and Laboratory Standards Institute. The results were collected using a web-based questionnaire and the data were analysed using SPSS 15.00. Bacterial identification scoring was defined as ten points when genus and species were accurately defined, eight points when genus was accurate but species was wrong, and zero point when

### ÖZET

**Amaç:** Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi (UAMDSS), Türkiye'de antimikrobiyal direnç yüzdelerini saptamak ve takip etmek amacıyla kurulmuştur. Sistemin güvenilirliğini sağlamak amacıyla Eylül 2011'de ilk kez dış kalite güvence için laboratuvar yeterlilik değerlendirmesi gerçekleştirilmiştir.

**Yöntem:** Katılımcı 77 laboratuvarın her birine dörder bakteri suşu gönderilmiştir. Laboratuvarların UAMDSS standart uygulama prosedürleri ve Klinik Laboratuvar Enstitüsünün bakteri tanımlaması ve antibiyotik duyarlılık testlerini (ADT) yapmaları istenmiştir. Sonuçlar, web-tabanlı bir anket ile toplanmış ve veriler SPSS 15.00 ile analiz edilmiştir. Bakteriyel tanımlama skoru, cins ve tür düzeyinde doğru tanımlandığında on puan, cins doğru fakat tür hatalı olduğunda sekiz puan, yanlış tanımlandığında, rapor edilmediğinde ya da kontamine edildiğinde sıfır puan olarak tanımlanmıştır. ADT skorlaması her antibiyotik için doğru sonuç

<sup>1</sup>Kastamonu University, Kastamonu Medical School, Microbiology Department, Kastamonu

<sup>2</sup>Dokuz Eylül University, School of Medicine, Department of Microbiology, İzmir

<sup>3</sup>Public Health Agency of Turkey, Directorate of Early Warning and Response System and Field Epidemiology, Ankara

<sup>4</sup>Public Health Agency of Turkey, Directorate of Microbiology Reference Laboratories, Ankara

<sup>5</sup>Karadeniz Technical University, School of Medicine, Department of Microbiology, Trabzon

<sup>6</sup>Uludağ University, School of Medicine, Department of Microbiology, Bursa

<sup>7</sup>Akdeniz University, School of Medicine, Department of Microbiology, Antalya

<sup>8</sup>Erciyes University, School of Medicine, Department of Microbiology, Kayseri

<sup>9</sup>Public Health Agency of Turkey, Directorate of Software, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Nilay ÇÖPLÜ

Kastamonu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, 37150 Kastamonu - Türkiye  
Tel : +90 532 546 16 11 E-posta / E-mail : nilaycoplu@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 22.08.2017  
Kabul Tarihi / Accepted : 16.02.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.10437

Çöplü N, Gülay Z, Temel F, Şimşek H, Göl N, Aktaş D, Bayramoğlu G, Özakin C, Eyigör M, Perçin D, Gürdoğan K, Bayram M. The first external quality assurance laboratory proficiency assessment study of national antimicrobial resistance surveillance system in Turkey. Turk Hij Den Biyol Derg, 2018; 75(2): 117-126

it was misdiagnosed or not reported or contaminated. AST scoring included ten points per antibiotic when the result was correct. Two points were subtracted in case of a minor error (reported as susceptible or resistant when intermediate) and ten points in the case of a major or very major error (reported resistant when susceptible or as susceptible when resistant, respectively) during AST. The threshold value was determined as 70%.

**Results:** From the system, 68 laboratories had sent data and analysed. For *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecium* and *Pseudomonas aeruginosa* the success percentage for the identification of were 92.6%; 91.2%; 89.7% and 98.5%, respectively; and for AST the median/maximum score that could be achieved were 50/80; 28/50; 40/40 and 60/60, respectively. When the success percentages were classified as  $\leq 69.99\%$ ; 70.00%-89.99% and  $\geq 90.00\%$ , the distribution of the number of the laboratories were 10; 48; and 10 for the success percentage classes, respectively.

**Conclusion:** In this study, the system was considered reliable.

**Key Words:** quality control, drug resistance, microbial, surveillance, Turkey

verdiğinde 10 puan olarak tanımlanmıştır. ADT sırasında minör hata olduğunda (orta duyarlı iken duyarlı ya da dirençli rapor edildiğinde) iki puan çıkarılmış, major ya da çok major hata (sırasıyla duyarlı iken dirençli ve dirençli iken duyarlı rapor edildiğinde) 10 puan çıkarılmıştır. Eşik değer, %70 olarak belirlenmiştir.

**Bulgular:** Sistemden sonuç gönderen 68 laboratuvarın sonuçları analiz edilmiştir. *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecium* ve *Pseudomonas aeruginosa* için tanımlamada başarı sırası ile %92,6; %91,2; %89,7 ve %98,5; ADT için ulaşılabilen median/maksimum skorlar sırası ile 50/80; 28/50; 40/40 ve 60/60 olarak belirlenmiştir. Toplam başarı yüzdeleri  $\leq 69,99$ ; %70,00 -%89,99 ve  $\geq 90,00$  olarak sınıflandırıldığında, laboratuvarların bu sınıflara dağılımı sırası ile 10; 48 ve 10 şeklinde bulunmuştur.

**Sonuç:** Bu çalışmada, sistemin güvenilir olduğunu düşündürmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** kalite kontrol, ilaç direnci, mikrobiyal, sürveyans, Türkiye

## INTRODUCTION

National Antimicrobial Resistance Surveillance System (NAMRSS) was established aiming to determine and track the percentage of antimicrobial resistance for the selected indicator bacteria and antimicrobials throughout the country in Turkey. For this purpose, a questionnaire was performed by participation of 322 laboratories from 12 regions determined by Turkey Nomenclature Units of Territorial for Statistics. Among them 77 laboratories were selected for the system which were university, training and research, and state hospitals, according to their score values and distribution equality over the country and institutions (1). The questionnaire included 90 queries which were focused on the capacity of culture performance including blood culture, and

AST which were based on World Health Organisation (WHO) documents (2). The staff of the laboratories had received a course about software WHONET and standard operating procedures (SOP's) which were in accordance with the international surveillance systems (3-6). After the course, they have been asked to study the antimicrobial susceptibility tests for indicator antimicrobials for *E.coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis* and *E. faecium*, *S. aureus*, *S. pneumoniae* isolated from blood or CSF, and send their results to Turkish Public Health Centre (TPHC) by using WHONET software (3,4).

On the other hand, the isolates were not sent to the TPHC, so that there was still need to perform external quality assurance (EQA) studies in order to

rely on the data of the system. Other international systems have performed EQA studies for the same purposes (5-7). For EQA, to collect and analyse the internal quality control (IQC) data, ii. observation on sight study, iii. retest a certain percentage of resistant strains and iv. laboratory proficiency assessment (LPA) were planned. Observation on sight study was done by visiting 25 of 77 laboratories in 2011 (8).

This LPA was another EQA study, which was performed in 2011, as the first quality study of NAMRSS together with observation on sight study, aiming to determine the accuracy of the reported results of the susceptibility test by individual laboratories and to estimate the overall comparability of the collected test results between laboratories across the country.

## MATERIAL and METHOD

**A main scopes:** WHO document was used to plan EQA LPA (9,10). This first LPA of the NAMRSS EQA was started by sending four bacteria strains to 77 participating laboratories on 20 September 2011 (11,12). Five of these laboratories belong to the quality control (QC) subcommittee which had worked on the strains previously, and were included the study to address issues which might develop throughout the assessment. The laboratories were asked to perform the bacterial identification and antimicrobial susceptibility tests according to SOP of NAMRSS and CLSI (3,4). The results of bacterial identification and antibiotic susceptibility tests were collected using a web-based questionnaire and the results were analysed using SPSS 15.00.

**Bacterial identification:** It could be done by only automated systems or additional conventional tests, which depends on the laboratories choice. Bacterial identification scoring was defined as ten points when genus and species were accurately defined, eight points when genus was accurate but species was wrong, and zero point when it was misdiagnosed or not reported or contaminated. If only automated system had been used, scoring included ten points

for identification according to the definition. In case the conventional tests were added, second ten points were included for identification tests. The bacteria those were sent to the laboratories, and if running, the conventional tests those were defined in the SOP (4) to be performed for identification were *Klebsiella pneumoniae*: colony morphology, microscopy, TSI, imvic, urea, motility, oxidase test; *Streptococcus pneumoniae*: microscopy, optochin resistance, bile solubility; *Enterococcus faecium*: catalase, growth at 6.5% NaCl or PYR; *Pseudomonas aeruginosa* colony morphology, microscopy, TSI, oxidase test. For each bacterium, number of conventional tests were different, so that 10/7 points for each test that had a correct result could be received when *K. pneumoniae* was studied, because there were seven tests to be performed for this bacterium. Likewise, the points those could be received for each test were 10/3, 10/2 and 10/4 for *S. pneumoniae*, *E. faecium* and *P. aeruginosa*, respectively.

**AST:** The antibiotics those were expected to be studied for AST for the selected bacteria were as follows: amoxicillin or ampicillin, amikacin or gentamicin or tobramycin; levofloxacin or ofloxacin or ciprofloxacin, nalidixic acid, cefotaxime or ceftriaxone, ceftazidime, and ESBL presence for *K. pneumoniae*; oxacillin, penicillin (MIC value), erythromycin, cefotaxime or ceftriaxone (MIC value), and norfloxacin for *S. pneumoniae*; amoxicillin or ampicillin, gentamicin (120 µg disk), streptomycin (300 µg disk), and vancomycin (MIC value) for *E. faecium*; piperacillin or piperacillin/tazobactam, amikacin or gentamicin or tobramycin, ciprofloxacin or levofloxacin, ceftazidime, imipenem, and meropenem for *P. aeruginosa*, according to the SOP (3,4). Scoring included ten points per antibiotic for AST. Two points were subtracted in case of a minor error (reported as susceptible or resistant when intermediate) and ten points in the case of a major or very major error (reported resistant when susceptible or as susceptible when resistant, respectively) during AST (11,13).

**Evaluation criteria:** The maximum score that could be achieved altogether by identification and antibiotic susceptibility testing were 80/90; 60/70; 50/60 and 70/80 for automated methods/conventional methods for *K. pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *E. faecium* and *P. aeruginosa*, respectively. The assessment was based on success percentage so that the standardization could be achieved. The threshold value for the percentage of success was determined as 70%, arbitrarily.

## RESULTS

**The laboratories involved:** The results of the QC subcommittee laboratories as well as the other participating laboratories showed that no problem have developed during the process; therefore the results of the five each QC subcommittee laboratories were excluded from the assessment to prevent any potential influence on the analysis of the results. Besides, four laboratories did not send data, so that 94.8% of the laboratories had participated in the study. As a result, data of 68 laboratories were analysed for EQA LPA in total. The number of the laboratories participated were: seven each from Ankara; five each from Istanbul; three each from Adana, Antalya and Erzurum; two each from Izmir, Diyarbakir, Eskisehir, Gaziantep, Konya, Samsun, Tekirdağ, Tokat; and one

from each of the other 31 province.

**Bacterial identification:** 23 of the laboratories used only automated system for identification of the bacteria and others used conventional methods in addition (Table 1). The distributions of laboratories where only automated system have been used for identification were 52.9%, 50.0%, 48.5%, and 33.8%; for *E. faecium*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, and *S. pneumoniae*, respectively.

The conventional tests were used by 45 laboratories. The distribution of laboratories using conventional methods for *S.pneumoniae*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*, and *E.faecium* were: 45, 35, 34 and 32, respectively.

The distribution of the bacterial success of identification (ten score points) of the participating laboratories for *K. pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *E.faecium* and *P.aeruginosa* were 92.6%; 91.2%; 89.7% and 98.5%, respectively (Table 2). When misidentification reasons have been analyzed, it was observed that for *K.pneumoniae* five laboratories couldn't perform identification even genus level and identified as *E.coli* (three laboratories), *Pseudomonas aeruginosa* (one laboratory) and one laboratory declared that wrong strain has been sent, so that they received zero score point.

**Table 1.** Distribution of laboratories involved in NAMRSS EQA LPA by number of strains analysed using conventional methods

| Number of strains analyzed using conventional methods | Number of laboratories | %     |
|---|------------------------|-------|
| 0*  | 23                     | 33.8  |
| 1   | 9                      | 13.2  |
| 2   | 2                      | 3.0   |
| 3   | 4                      | 5.9   |
| 4   | 30                     | 44.1  |
| Total   | 68                     | 100.0 |

\* 23 laboratories used only automated system for identification.



**Table 2.** Success of identification of the four strains of the participating laboratories (max. score:ten for each bacterial).

| Score                 | Number of laboratories | %     |
|-----------------------|------------------------|-------|
| <i>K.pneumoniae*</i>  |                        |       |
| 10                    | 63                     | 92.6  |
| 0                     | 5                      | 7.4   |
| <i>S. pneumonia**</i> |                        |       |
| 10                    | 62                     | 91.2  |
| 8                     | 1                      | 1.5   |
| 0                     | 5                      | 7.3   |
| <i>E. faecium</i>     |                        |       |
| 10                    | 61                     | 89.7  |
| 8                     | 5                      | 7.4   |
| 0                     | 2                      | 2.9   |
| <i>P. aeruginosa</i>  |                        |       |
| 10                    | 67                     | 98.5  |
| 8                     | 1                      | 1.5   |
| Total                 | 68                     | 100.0 |

\*One laboratory did not work on this strain due to defects in the sample shipping. This strain was excluded when success rate was calculated.

\*\* Two laboratories did not work on this strain due to defects in the sample shipping. This strain was excluded when success rate was calculated for these two laboratories.

0: Not reported or misdiagnosis or contamination

8: Error at species level

10: Full identification

For *S.pneumoniae*, one laboratory identified as *Streptococcus mitis* and received eight score point; two laboratories identified as *K.pneumoniae*, and each of other three laboratories identified as *Aspergillus* spp. unknown, and no growth.

For *E.faecium*, five laboratories received eight score points because they couldn't identify to species level (one of them identified as *E.faecalis*). Two of the laboratories identified as *S.aureus* and received zero score point.

For *P.aeruginosa*, only one laboratory missed identification to species level and received eight score points.

AST: Scores of the laboratories showed that there was no laboratory which could get maximum score for *K.pneumoniae* that was 80 score points, and the median was 50. For *S.pneumoniae*, 7.3% laboratories

could get maximum score point which was 50 and the median was 28. Contrarily, maximum score could be achieved by 61.8% and 63.2% for *E. faecium* and *P. aeruginosa*, respectively, and the median scores were the same as the maximum scores for both bacteria (Table 3).

When error levels were analysed, it was found that for *K.pneumoniae*: for amikacin there were 1/62 major, 18/62 minor error; for ofloxacin and levofloxacin 1/9 and 1/49 very major error, respectively. There was no error for *E.faecium*. The error levels for *P. aeruginosa* and *S. pneumoniae* were presented in Table 4. The most common errors were oxacillin, penicillin and norfloxacin for *S.pneumoniae*. On the other hand, the error were below 10% for the other antimicrobials for *S.pneumoniae* and all of the antimicrobials for *P.aeruginosa*.

Table 3. Antimicrobial susceptibility test scores of the laboratories for four strains

| Score                                 | Number of laboratories | %            |
|---------------------------------------|------------------------|--------------|
| <b><i>K. pneumoniae</i> (Max: 80)</b> |                        |              |
| 0                                     | 1                      | 1.5          |
| 30                                    | 2                      | 2.9          |
| 40                                    | 16                     | 23.5         |
| 50                                    | 42                     | 61.8         |
| 60                                    | 7                      | 10.3         |
| ESBL                                  |                        |              |
| 0                                     | 11                     | 16.2         |
| 10                                    | 57                     | 83.8         |
| Mean±sd; Median (Min-Max)             | 47.4±8.7; 50 (0-60)    |              |
| <b><i>S. pneumoniae</i> (Max: 50)</b> |                        |              |
| 0                                     | 7                      | 10.3         |
| 10                                    | 9                      | 13.2         |
| 15                                    | 1                      | 1.5          |
| 20                                    | 14                     | 20.6         |
| 25                                    | 2                      | 2.9          |
| 28                                    | 4                      | 5.9          |
| 30                                    | 17                     | 25.0         |
| 35                                    | 1                      | 1.5          |
| 38                                    | 1                      | 1.5          |
| 40                                    | 4                      | 5.9          |
| 45                                    | 1                      | 1.5          |
| 48                                    | 2                      | 2.9          |
| 50                                    | 5                      | 7.3          |
| Mean±sd; Median (Min-Max)             | 24.7±14.0; 28 (0-50)   |              |
| <b><i>E. faecium</i> (Max: 40)</b>    |                        |              |
| 10                                    | 3                      | 4.4          |
| 20                                    | 3                      | 4.4          |
| 30                                    | 20                     | 29.4         |
| 40                                    | 42                     | 61.8         |
| Mean±sd; Median (Min-Max)             | 34.9±7.8; 40 (10-40)   |              |
| <b><i>P. aeruginosa</i> (Max: 60)</b> |                        |              |
| 20                                    | 1                      | 1.5          |
| 40                                    | 2                      | 2.9          |
| 45                                    | 2                      | 2.9          |
| 50                                    | 18                     | 26.5         |
| 55                                    | 1                      | 1.5          |
| 58                                    | 1                      | 1.5          |
| 60                                    | 43                     | 63.2         |
| Mean±sd; Median (Min-Max)             | 55.6±7.1; 60 (20-60)   |              |
| <b>Total</b>                          | <b>68</b>              | <b>100.0</b> |

ESBL: Extended Spectrum Beta Lactamases

**Table 4.** Error levels of antimicrobial susceptibility tests for *P. aeruginosa* and *S. pneumoniae*

| Bacteria                        | Antimicrobials          | n* | R/S/I | Very major error | Major error | Minor error | n of labs. engaged in error | Error level %** |
|---------------------------------|-------------------------|----|-------|------------------|-------------|-------------|-----------------------------|-----------------|
| <i>P. aeruginosa</i>            | Piperacillin            | 36 | S     | -                | -           | -           | -                           | -               |
|                                 | Piperacillin/Tazobactam | 58 | S     | -                | 4           | -           | 4                           | 6.9             |
|                                 | Amikacin                | 63 | S     | -                | -           | -           | -                           | -               |
|                                 | Gentamicin              | 63 | S     | -                | -           | -           | -                           | -               |
|                                 | Tobramycin              | 17 | S     | -                | -           | -           | -                           | -               |
|                                 | Ciprofloxacin           | 59 | S     | -                | 1           | -           | 1                           | 1.7             |
|                                 | Levofloxacin            | 49 | S     | -                | 2           | -           | 2                           | 4.1             |
|                                 | Ceftazidime             | 62 | S     | -                | 3           | 1           | 4                           | 6.5             |
|                                 | Imipenem                | 65 | S     | -                | 2           | -           | 2                           | 3.1             |
|                                 | Meropenem               | 60 | S     | -                | 1           | -           | 1                           | 1.7             |
| <i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619 | Oxacillin               | 34 | R     | 11               | -           | -           | 11                          | 32.4            |
|                                 | Penicillin MIC          | 39 | S     | -                | 4           | 7           | 11                          | 28.2            |
|                                 | Erythromycin            | 56 | S     | -                | 1           | -           | 1                           | 1.8             |
|                                 | Cefotaxim               | 29 | S     | -                | -           | -           | -                           | -               |
|                                 | Ceftriaxone MIC         | 22 | S     | -                | 1           | -           | 1                           | 4.6             |
|                                 | Norfloxacin             | 18 | S     | -                | 2           | -           | 2                           | 11.1            |

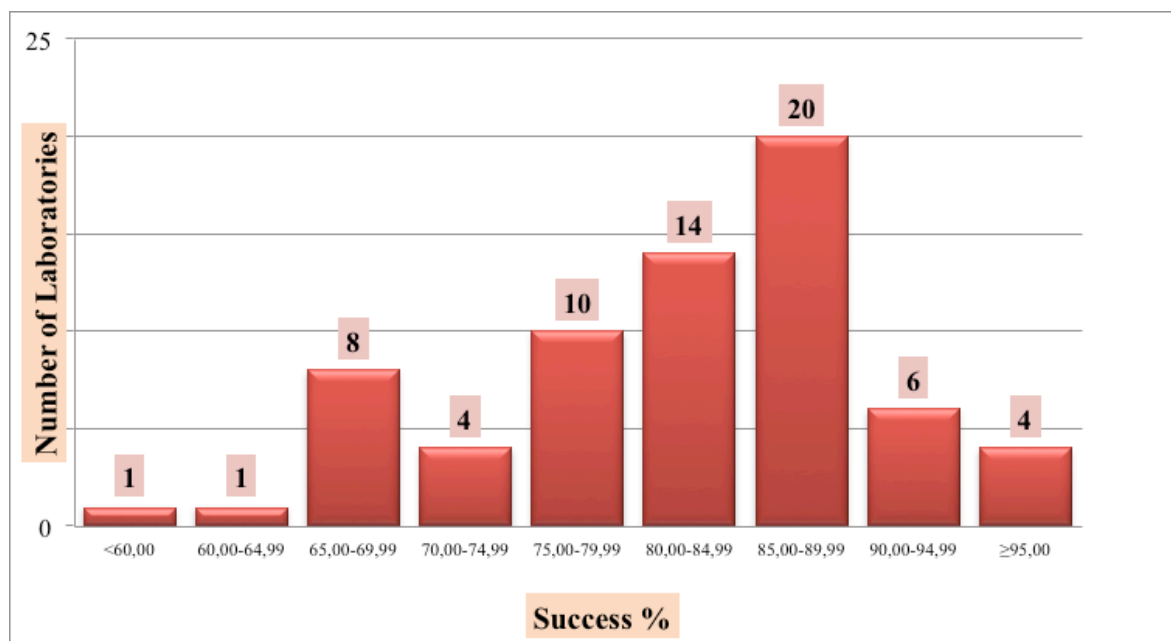
\*Number of laboratories which sent results for the mentioned antimicrobial.

\*\*Error level= Number of laboratory engaged in error/number of laboratories which sent results for the mentioned antimicrobial.

**Overall evaluation:** The success percentages were classified as  $\leq 49.99\%$ ; 50.00-69.99%; 70.00-89.99% and  $\geq 90.00\%$ , and the distribution of the number of the laboratories were 1; 9; 48 and 10 for the success percentage classes, respectively (Figure 1). Twenty laboratories success rate were in 85.00-89.99% class for, which was the biggest group. There were ten laboratories which have performed below the threshold success percentage 70%.

## DISCUSSION

Assessment is a critical issue for laboratory quality management. One of the most common assessment methods is that of external quality assessment. EQA is a method that allows for comparison of a laboratory's testing to a source outside the laboratory which can be made to the performance of a peer group of laboratories or to the performance of a reference



**Figure 1.** The distribution of the number of laboratories according to the success percentages for bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing for four strains

laboratory (9). In this assessment, we compared performance of 68 laboratories to the performance of the QC subcommittee laboratories.

It is obvious that the quality of the surveillance system is directly influenced by the performance of the laboratories involved in NAMRSS. Although the selection of the laboratories was done through a questionnaire study (1), it was essential to do both IQC studies as well as EQA tests, and LPA was one of these studies. Only four of the laboratories didn't sent results and participation was high (94.8%) (Figure 1). Participation in the EQA studies in Europe Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) 2010 (5), EARS-Net 2014 (14), and Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance (CAESAR) Annual Report 2014 (6) were 88%, 92%, and 92% respectively, and our participation percentage was similar to these reports.

The laboratories where conventional tests were done, it was preferred to do this for at least some

simple tests like microscopy, catalase, oxidase before working with automated system. For *S. pneumoniae*, microscopy has a distinctive feature which may be the reason for all the laboratories those prefer to perform conventional tests. According to the surveillance report of the EARS-Net in 2010 (5), laboratories used automated (52%) or conventional methods (46%) for identification of the bacteria, and automated systems (42%), disc diffusion tests (34%) or combined methods (14%) for AST. Increased use of conventional methods was associated with identification of the *S. pneumoniae* and *E. faecium*. Surveillance report of the EARS-Net in 2014, for species identification and AST, 56% of the participating laboratories used an automated and 44% used conventional methods. Increased use of conventional methods was associated with identification of the *S. pneumoniae*, which was similar to our study (14). Likewise, in CAESAR annual report (6) 49% of the laboratories used automated instrument, 47% used disc diffusion method, and 4% other methods in the LPA study.

Besides, the identification of *S.pneumoniae* was correct in the results of 91.2% of the laboratories in our study. According to an ECDC external quality assurance study, 17 (89%) laboratories have correctly identified *S. pneumoniae* (15). In our study, it was observed that maximum success was achieved for *P. aeruginosa* and the minimum was for *E.faecium*, but the scores were close to each other (Table 2).

When antimicrobial susceptibility test scores were analysed, it was observed that for *P. aeruginosa* and *E. faecium*, the results were satisfactory: for *E. faecium* there was no error, for *P. aeruginosa* there was no very major error. On the other hand, for *K. pneumoniae* the laboratories failed to receive maximum score, there were very major errors as well as major and minor errors. Error levels were similar for *S. pneumoniae*. NAMRSS is a member of CAESAR, and in annual report 2014, and the results of Turkey were defined as “level a data”. In the report, the results of EQA study was included as well (6). From Turkey 72 of 78 laboratories had participated the EQA study where there were three strains in common with this study. When comparing the results, it was observed that success has been improved according to CAESAR report: for *K. pneumoniae* both aminoglycosides and fluoroquinolones were 100%; for *S. pneumoniae* oxacillin (98%), penicillin (56% for meningitis, 92% for other than meningitis), erythromycin (100%), ceftriaxone (97% for meningitis, 82% for other than meningitis) and norfloxacin (92%) showed better results (6). For *P. aeruginosa*, it was observed that piperacillin/tazobactam error level has been increased from 6.9% (NAMRSS) to 43% (CAESAR), but for the other antimicrobials the results were similar, success percentages changed in between 96-100%. Piperacillin/tazobactam success level was 57% for *P.aeruginosa* in EARS-Net 2010 (5), which was close to the results in CAESAR from Turkey (6). The results of CAESAR showed that NAMRSS success has been remained similar or have been improved in most instances.

SOP's of NAMRSS is similar to EARS-Net, so the findings of our study were compared to the surveillance report of EARS-NET 2014 report. For AST, the correct results for *K. pneumoniae* were as: ESBL 67.2%; amikacin 73.5%, and the other antimicrobials 97.0-100.0%. In our study, the error source was amikasin with

one major 18 minor error, like EARS-Net (14). Likewise, the results for *S. pneumoniae* for oxacillin there were 86.9% success, where for penicillin, depending the site of infection the success was changing in between 51.4-94.1%. For the other antimicrobials, the success was 88.2% for norfloxacin, but higher than 96.1% for the others (14). In our study, the most error source were oxacillin, penicillin and norfloxacin (Table 4) which was similar to EARS-Net. For *E. faecium* except for the high level gentamicin resistance with 90.9%, the other antimicrobials had high concordance with the report (14).

Our results showed comparable results for the EQA studies of the other two surveillance systems. These systems had similar SOP's and were in close geographical region, so that the results of this EQA study is thought to be reliable.

The information received by LPA participation should be directed to improvement in the laboratory (9). The results of this assessment were used to give feedback to the laboratories to improve themselves, and the results of CAESAR 2014 report shows that laboratories had improved their tests. Besides, the LPA should not be used for any purpose other than internal quality improvement, so the provider or central organization generally prohibits the discussion of results with other laboratories (6). In this study, we also did not share our results with other laboratories but we have sent the result to each laboratory of concern.

It is important to remember that LPA does have some limitations and it is not appropriate to use only LPA for evaluating the quality of a laboratory (6,9). For the laboratories involved in NAMRSS, observation on sight study was done in the same period and even though there were issues those need to be improved, the AST results seem to be reliable by this study (2,8). Besides other EQA studies were planned to be done for the NAMRSS laboratories.

When looking at the overall success, very few laboratories were below the threshold and most of the laboratories were found to be successful so that the data of the system can be considered reliable.

## ACKNOWLEDGMENTS

We extend our thanks to Professor Dr. Mustafa Ertek, and Associate Professor Dr. Berrin Esen for their managerial and scientific guidance. Our thanks also go to WHO consultant Dr. Ray Sanders for scientific advice, and resident students and Biologist Demet Furkan Sevindi, Dr. Emek Türkekül Şen, Dr. Kenan Murat and Dr. Semra Kavas for their contribution in the laboratory work as well as the specialists of participating laboratories for their cooperation.

## REFERENCES

- Gözalın A, Çöplü N, Aktaş D, Şimşek H, Erdem GB, Mumcuoğlu İ. Performance evaluation of the microbiology laboratories in Turkey for culture and antibiotic susceptibility tests and the selection of laboratories to provide data for national antimicrobial resistance surveillance system: questionnaire application. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2015; 72(3): 175 - 82.
- Anonmyous. Antimicrobial Resistance Surveillance Questionnaire for Assessment of National Networks WHO/CDS/ CSR/RMD/2003.1. World Health Organization. <http://www.who.int/drugresistance/whocdscsrrmd20031.pdf?ua=1>, (Accessed: December 12, 2015).
- Anonmyous. M100S21 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Vol. 31. No 1. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011.
- Anonmyous. National Antimicrobial Resistance Surveillance System Laboratory Tests, Quality Control and Quality Assurance Standard Operating Procedure and WHONET Software Programme. 2011.
- Anonmyous. Antimicrobial resistance surveillance in Europe Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) 2010. [www.ecdc.europa.eu](http://www.ecdc.europa.eu), (Accessed: December 12, 2015).
- Anonmyous. Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance, Annual Report 2014. World Health Organization. [http://www.euro.who.int/\\_data/assets/pdf\\_file/0006/285405/CEASER-Surveillance-Antimicrobial-Resistance-2014.pdf?ua=1](http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0006/285405/CEASER-Surveillance-Antimicrobial-Resistance-2014.pdf?ua=1), (Accessed: December 12, 2015).
- Anonmyous. EU Laboratory Capability Monitoring System (EULabCap) Report on 2013 Survey of EU/EEA Country Capabilities and Capacities. Swedish: Stockholm, 2016. doi 10.2900/63194.
- Akbas E, Cöplü N, Simsek H, Esen B, Sezgin B. Laboratory Evaluation of susceptibility tests for national antimicrobial resistance surveillance system (NAMRSS) in Turkey. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2018; 75(1): 1-12.
- Anonmyous. External Quality Assessment \_ Module 10 \_ Content Sheet. World Health Organization. [http://www.who.int/ihr/training/laboratory\\_quality/10\\_b\\_eqa\\_contents.pdf](http://www.who.int/ihr/training/laboratory_quality/10_b_eqa_contents.pdf), (Accessed: December 12, 2015).
- Anonmyous. Laboratory Quality Management System: Handbook. World Health Organization. [http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241548274\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241548274_eng.pdf), (Accessed: December 12, 2015).
- Anonmyous. [http://uamdss.thsk.gov.tr/images/UAMDSS\\_report\\_English\\_9%20April.pdf](http://uamdss.thsk.gov.tr/images/UAMDSS_report_English_9%20April.pdf), (Accessed: December 12, 2015).
- Anonmyous. National Antimicrobial Resistance Surveillance System, NAMRSS, Annual Report 2011. [http://uamdss.thsk.gov.tr/index.php?option=com\\_phocadownload&view=category&id=6:raporlar&Itemid=13](http://uamdss.thsk.gov.tr/index.php?option=com_phocadownload&view=category&id=6:raporlar&Itemid=13) Turkish, (Accessed: December 12, 2015).
- Anonmyous. Cumitech 31A, Verification and Validation of Procedures In The Clinical Microbiology Laboratories. Washington: ASM Press, 2009.
- Anonmyous. Antimicrobial Resistance Surveillance In Europe Annual Report of The European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) 2014. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-europe-2014.pdf>, (Accessed: December 12, 2015).
- Anonmyous. European Centre For Disease Prevention And Control. External Quality Assurance Scheme For Streptococcus pneumoniae - 2012. Stockholm: ECDC, 2013.

## Spotchem EZ SP-4430 kuru kimya cihazında çalışılan bazı biyokimya testlerin verifikasyonu

### Verification of some biochemistry tests that to be analyzed in Spotchem EZ SP-4430 dry chemistry system

Yakup DÜLGEROĞLU<sup>1</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Tıbbi laboratuvarlarda yeni bir yöntemle hasta sonucu verilmeden önce yöntemin performansı değerlendirilerek ticari firmanın performans verileri test edilmelidir. Bu çalışmada, Bilecik Halk Sağlığı Laboratuvarı gözetimindeki entegre hastane laboratuvarlarına kurulması düşünülen kuru sistem biyokimya cihazında çalışılacak testlerin, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından yayımlanan EP15-A2 kılavuzuna göre verifikasyonunun yapılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Spotchem-EZ (Arkray) cihazında çalışılan glikoz, üre, total kolesterol, AST, ALT, TBIL ve kalsiyum testleri için CLSI-EP15-A2 rehberi esas alınarak verifikasyon çalışması yapılmıştır. Bu kapsamda, bias hesaplaması için karşılaştırılan cihaz olarak mevcut otoanalizör olan Mindray-BS800M cihazı kullanılmıştır. Testlerin kesinlik değerlerinin hesaplanması için 5 (beş) gün süresince 2 (iki) seviye iç kalite kontrol numunesi üçer tekrar olacak şekilde Spotchem-EZ cihazında çalışılmıştır. Gerçekliğin hesaplanması için 20 adet hasta serumu Spotchem-EZ ve BS800M otoanalizörü ile çalışılmıştır. EP15-A2 rehberi temelinde verifikasyon değerleri hesaplanmıştır.

#### ABSTRACT

**Objective:** The test performance data of the commercial firm should be tested by evaluating the performance of the method before patient is given the result with a new method in medical laboratories. It has been aimed on this study that verification of tests which will work on the equipment of dry system biochemistry which is planned to be established to integrated hospital laboratories in trust of Bilecik Public Health Laboratory is made by EP15-A2 guideline which was published by Clinical and Laboratory Standards Institution (CLSI).

**Methods:** Verification study has been made on Spotchem-EZ (Arkray) device on the base of CLSI, EP15-A2 guidelines for glucose, BUN, AST, ALT, TBIL, total cholesterol, and calcium tests. As a comparative device for the bias calculation, Mindray-BS800M device which is the current autoanalyzer was used. It was studied on Spotchem-EZ device in a way that there were to be 2 (two) level internal quality control as three times and repetitive for 5 (five) days, in order to calculate precision on above - designated tests. In order to calculate trueness, 20 patient serums were studied on Spotchem-EZ and BS800M autoanalyzer. Verification values were calculated in company with EP15-A2 guidelines.

<sup>1</sup>Bilecik Halk Sağlığı Laboratuvarı, Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı, Bilecik



İletişim / Corresponding Author : Yakup DÜLGEROĞLU

Bahçelievler M. Gündüz S. No: 1 Bilecik - Türkiye

Tel : +90 505 733 19 65

E-posta / E-mail : dulgeroglu.yakup@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 21.10.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 16.02.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.49344

Dülgeroglu Y. Spotchem EZ SP-4430 kuru kimya cihazında çalışılan bazı biyokimya testlerin verifikasyonu. Turk Hij Den Biyol Derg, 2018; 75(2): 127-134

**Bulgular:** Çalışma içi (within-run, Sr) kesinlik değeri glikoz, üre, total kolesterol, AST ve TBIL'nin her iki seviyesi, ALT ve kalsiyumun birinci seviyesi için verifikasyon limitleri içinde iken ALT ve kalsiyumun ikinci seviyeleri için verifikasyon limitleri dışındadır. Glikoz, üre, total kolesterol, AST, ALT ve TBIL için bias değeri, hesaplanan verifikasyon limitleri içinde iken, kalsiyum için verifikasyon limitleri dışındadır.

**Sonuç:** EP15-A2 rehberi temelinde kesinlik ve bias açısından test edilen, kuru kimya cihaz sistemi ile çalışılan parametrelerin kesinliğinin kabul edilebilir olduğu, bias değerleri ise verifikasyon limitleri dışında olan parametrelerin laboratuvarda kurulu olan mevcut otoanalizörle uyumunun sınırlı olduğu ve bu parametrelerin referans yöntemler ile doğrulanması gerekeceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** kuru kimya, Spotchem EZ, verifikasyon, EP15-A2

**Results:** The within-run (Sr) precision value, verification limits are with inside for each two level of glucose, urea, total cholesterol, AST, and TBIL; for first level of ALT and calcium and also verification limits are outside for second levels of calcium and ALT. While the bias value is within the calculated verification limits for glucose, urea, total cholesterol, AST, ALT and TBIL; it is outside of verification limits for calcium.

**Conclusion:** We consider that precision of parameters which were tested in company with EP15-A2 guideline and were studied by dry chemistry system are acceptable, conformity between tests which bias values are outside of verification limits and current autoanalyzer on laboratory is restricted and it will require that these parameters are to be verified by reference method.

**Key Words:** dry chemistry, Spotchem EZ, verification, EP15-A2

## GİRİŞ

Yöntem ya da cihaz validasyonu klinik laboratuvarlar için oldukça önemli bir konudur. Yeni bir yöntemle hasta sonucu vermeden önce o yöntemin doğrulanması gerekir (1). Uluslararası Metroloji Sözlüğüne göre validasyon (geçerli kılma), “belirtilen şartların amaçlanan kullanım için uygunluğunun doğrulanması” olarak tanımlanmıştır. Aynı sözlükte verifikasyon (doğrulama) ise “bir ögenin belirtilen şartları sağladığını gösteren açık kanıtların elde edilmesi” olarak tanımlanmaktadır. Örneğin; sudaki azot miktarını ölçmekte kullanılan bir yöntemin insan serumundaki ölçümlerde kullanılmak üzere geçerli kılınması validasyon tanımı kapsamında iken, o ölçüm sisteminin performans özelliklerini veya yasal gereklilikleri sağladığının teyit edilmesi verifikasyon kapsamında değerlendirilmektedir (2).

Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI), klinik laboratuvarlarda yöntem değerlendirilmesine

yönelik çeşitli kılavuzlar yayınlamıştır. Bunlardan EP15-A2 numaralı “User Verification of Performance for Precision and Trueness” başlıklı rehber, laboratuvara yeni kurulması planlanan bir yöntem ya da testin performans verilerinin hesaplanmasını amaçlamaktadır. Böylelikle hasta sonucu vermeden önce o testin doğruluğu ve kesinliğine yönelik bilgiler edinilmiş olacak ve ticari firmanın belirttiği performans verileri test edilerek, doğrulanmış olacaktır (3).

Bu çalışma ile Bilecik Halk Sağlığı Laboratuvarı gözetiminde hizmet veren entegre ilçe hastane laboratuvarlarına kurulması planlanan Spotchem EZ SP-4430 (Arkray) kuru kimya cihazında çalışılacak olan glikoz, kolesterol, üre, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), total bilirübin (TBIL) ve kalsiyum (Ca) testlerinin EP15-A2 (3) rehberi doğrultusunda verifikasyonu amaçlanmıştır.



## GEREÇ ve YÖNTEM

Bilecik Halk Sağlığı Laboratuvarı'na demonstrasyon amaçlı kurulan Spotchem EZ (Arkray) kuru kimya cihazında, SPOTCHEM™ II PANEL-1 test çubuğu üzerinde bulunan glikoz, kolesterol, BUN (kan üre nitrojeni), AST, ALT ve TBIL testleri ve ayrı bir test çubuğunda çalışılan kalsiyum testi için EP15-A2 (3) rehberi doğrultusunda verifikasyon çalışması yapılmıştır. "BUN" testi ile ölçülen değer 2.14 katsayısı ile çarpılarak "üre" sonucuna çevrilmiş ve hesaplamalarda "üre" değeri kullanılmıştır. Çalışma sırasında kullanılan yöntemler aşağıda maddeler halinde açıklanmıştır. Ayrıca Tablo 1 ve Tablo 2'de bu çalışma kapsamında yapılan tüm hesaplamalar, glikoz örneği üzerinden ayrıntılarıyla gösterilmiştir.

### 1. Kesinlik değerlerinin hesaplanması ve üretici firma verilerinin verifikasyonu

#### 1.1 Çalışma içi kesinliğin hesaplanması

Kesinlik değerlerinin hesaplanması için 5 (beş) gün boyunca 2 (iki) seviye iç kalite kontrol solüsyonu (Beckman Coulter LOT 0033 ve 0034) her gün, her bir analit için 3 (üç) tekrarlı olacak şekilde çalışılmıştır. Elde edilen değerler, kullanılarak çalışma içi kesinlik değeri ya da tekrarlanabilirliğin tespiti için aşağıdaki formüllere göre çalışma içi kesinlik değeri ( $S_r$ ) hesaplanmıştır.

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum_{d=1}^D \sum_{i=1}^n (X_{di} - \bar{X}_d)^2}{D(n-1)}}$$

$\Sigma$ : Sağındaki terimlerin toplandığını gösterir.

D: Toplam gün sayısı (beş gün)

n: Günlük toplam çalışma sayısı (üç tekrar)

$X_{di}$ : 'd' günü için 'i' tekrar sonucu

$\bar{X}_d$ : 'd' günü için tüm sonuçların ortalaması

İlk olarak her bir analit için ayrı ayrı olmak üzere, gün içinde üç tekrar olarak çalışılan sonuçların ortalaması bulunmuştur. Üç tekrar olarak çalışılan testin her bir tekrar değeri, hesaplanan o günlük ortalamadan çıkarılarak karesi alınmıştır. Bu değerlerin

toplamının (n-1)'e bölünmesiyle o güne ait varyans değeri hesaplanmıştır. Hesaplanan varyansların beş günlük ortalamalarının karekökü alınarak ( $S_r$ ) değeri belirlenmiştir. Diğer bir ifade ile çalışma içi ortalama standart sapma bulunmuştur.

$$\bar{X}_d = \frac{\sum_{i=1}^3 X_i}{3}$$

$$\sum_{i=1}^3 X_i = X_1 + X_2 + X_3$$

$$\sum_{i=1}^3 X_i = X_1 + X_2 + X_3$$

$$\sum_{i=1}^n (X_{di} - \bar{X}_d)^2 = (X_1 - \bar{X}_d)^2 + (X_2 - \bar{X}_d)^2 + (X_3 - \bar{X}_d)^2$$

$$sd_{run}^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_{di} - \bar{X}_d)^2}{2}$$

$$sd_{run,average}^2 = \frac{sd_{run1}^2 + sd_{run2}^2 + sd_{run3}^2 + sd_{run4}^2 + sd_{run5}^2}{5}$$

$$S_r = \sqrt{sd_{run,average}^2}$$

#### 1.2 Çalışma içi kesinlik için verifikasyon değerlerinin hesaplanması

Hesaplanan çalışma içi kesinlik değerleri ile üretici firmanın prospektüsünde yer alan %CV değerlerinin uyumlu olup olmadığının tespiti için aşağıdaki formüle göre verifikasyon değeri hesaplanmıştır. Hesaplanan  $S_r$  değeri verifikasyon değerinden küçük ya da eşitse, tekrarlanabilirliğin üretici firma verileri ile uyumlu olduğu kabul edilmiştir.

$$\text{Verifikasyon değeri} = \frac{\sigma_r \cdot \sqrt{C}}{\sqrt{V}} \quad \sigma_r = \%CV_r \cdot \bar{X}$$

%CV<sub>r</sub>: Ticari firmanın kit prospektüsünde yer alan %CV<sub>r</sub> değeri

$\bar{X}$ : Tüm günlere (beş gün) ait sonuçların aritmetik ortalaması

$$V = D \cdot (n - 1) = 5 \cdot (3 - 1) = 10$$

C: Kikare tablosundan %5 yanılma olasılığı ile iki seviyeli çalışma için "V" serbestlik derecesine karşılık gelen değer (=20.48)

#### 2. Gerçeklik değerlerinin hesaplanması ve üretici firma verilerinin verifikasyonu

Gerçeklik, bir analit için ölçülen değerlerin gerçek bir değere, kabul edilmiş standarda ya da beklenen bir değere uyumudur. Bias, gerçekliğin ölçüsü olarak kabul edilmektedir (4). Doğruluk ve gerçeklik (accuracy

Tablo 1. EP15-A2 rehberine göre çalışma içi kesinliğin verifikasyonu çalışmasının bir örnek ile gösterimi

| <b>GLUKOZ (SEVİYE 1)</b>  | <b>1.Gün</b>   | <b>2.Gün</b> | <b>3.Gün</b> | <b>4.Gün</b> | <b>5.Gün</b> |
|---|--|--------------|--------------|--------------|--------------|
| <b>Tekrar 1 (X<sub>1</sub>)</b>   | 90   | 91           | 95           | 90           | 90           |
| <b>Tekrar 2 (X<sub>2</sub>)</b>   | 91   | 92           | 97           | 93           | 93           |
| <b>Tekrar 3 (X<sub>3</sub>)</b>   | 95   | 92           | 92           | 94           | 94           |
| $\sum_{i=1}^3 X_i = X_1 + X_2 + X_3$  | 276  | 275          | 284          | 277          | 277          |
| $\bar{X}_d = \frac{\sum_{i=1}^3 X_i}{3}$  | 92   | 91.67        | 94.67        | 92.33        | 92.33        |
| $X_1 - \bar{X}_d$   | -2   | -0.67        | 0.33         | -2.33        | -2.33        |
| $(X_1 - \bar{X}_d)^2$   | 4  | 0.44         | 0.11         | 5.44         | 5.44         |
| $X_2 - \bar{X}_d$   | -1   | 0.33         | 2.33         | 0.67         | 0.67         |
| $(X_2 - \bar{X}_d)^2$   | 1  | 0.11         | 5.44         | 0.44         | 0.44         |
| $X_3 - \bar{X}_d$   | 3  | 0.33         | -2.67        | 1.67         | 1.67         |
| $(X_3 - \bar{X}_d)^2$   | 9  | 0.11         | 7.11         | 2.78         | 2.78         |
| $\sum_{i=1}^n (X_{di} - \bar{X}_d)^2 = (X_1 - \bar{X}_d)^2 + (X_2 - \bar{X}_d)^2 + (X_3 - \bar{X}_d)^2$   | 14   | 0.67         | 12.67        | 8.67         | 8.67         |
| $sd_{run}^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_{di} - \bar{X}_d)^2}{2}$  | 7  | 0.33         | 6.33         | 4.33         | 4.33         |
| $\bar{X}_d - \bar{X}$   | -0.6   | -0.93        | 2.07         | -0.27        | -0.27        |
| $(\bar{X}_d - \bar{X})^2$   | 0.36   | 0.87         | 4.27         | 0.07         | 0.07         |
| $\bar{X} = \frac{\bar{X}_1 + \bar{X}_2 + \bar{X}_3 + \bar{X}_4 + \bar{X}_5}{5}$   | 92.6   |              |              |              |              |
| $sd_{run,average}^2 = \frac{sd_{run1}^2 + sd_{run2}^2 + sd_{run3}^2 + sd_{run4}^2 + sd_{run5}^2}{5}$  | 4.47   |              |              |              |              |
| $s_r = \sqrt{sd_{run,average}^2}$   | 2.11   |              |              |              |              |
| $\sigma_r = \%CV_r \cdot \bar{X}$   | = 0.03•92.60 = 2.78                                  |              |              |              |              |
| Verifikasyon değeri = $\frac{\sigma_r \cdot \sqrt{C}}{\sqrt{V}}$<br>V = D. (n - 1)<br>D (toplam gün sayısı) = 5<br>n (tekrar sayısı) = 3<br>C (metin içerisinde açıklandığı gibi) = 20.48 | = $\frac{2.78 \cdot \sqrt{20.48}}{\sqrt{10}} = 3.98$ |              |              |              |              |

Tablo 2. EP15-A2 rehberine göre bias ve %bias değerlerinin verifikasyonu çalışmasının bir örnek ile gösterimi

| <u>Glukoz</u>  | <u>Spotchem EZ</u> |         |          |         |   | <u>BS 800M</u> |          |         |          |   |  |  |  |  |
|--|--------------------|---------|----------|---------|---|----------------|----------|---------|----------|---|--|--|--|--|
| <b>Hasta Örnekleri (mg/dL)</b>   | 1) 89              | 2) 119  | 3) 222   | 4) 94   | 5) 109  | 1) 83          | 2) 117   | 3) 229  | 4) 92    | 5) 104  |  |  |  |  |
|  | 6) 148             | 7) 104  | 8) 121   | 9) 71   | 10) 68  | 6) 147         | 7) 95    | 8) 111  | 9) 69    | 10) 66  |  |  |  |  |
|  | 11) 113            | 12) 145 | 13) 144  | 14) 78  | 15) 130   | 11) 108        | 12) 135  | 13) 141 | 14) 74   | 15) 123   |  |  |  |  |
|  | 16) 105            | 17) 97  | 18) 196  | 19) 120 | 20) 102   | 16) 96         | 17) 94   | 18) 182 | 19) 114  | 20) 100   |  |  |  |  |
| <b><math>b_i</math></b>  | 1) 6               |         | 2) 2     |         | 3) -7   |                | 4) 2     |         | 5) 5     |   |  |  |  |  |
|  | 6) 1               |         | 7) 9     |         | 8) 10   |                | 9) 2     |         | 10) 2    |   |  |  |  |  |
|  | 11) 5              |         | 12) 10   |         | 13) 3   |                | 14) 4    |         | 15) 7    |   |  |  |  |  |
|  | 16) 9              |         | 17) 3    |         | 18) 14  |                | 19) 6    |         | 20) 2    |   |  |  |  |  |
| <b><math>\%b_i</math></b>  | 1) 7.23            |         | 2) 1.71  |         | 3) -3.06  |                | 4) 2.17  |         | 5) 4.81  |   |  |  |  |  |
|  | 6) 0.68            |         | 7) 9.47  |         | 8) 9.01   |                | 9) 2.90  |         | 10) 3.03 |   |  |  |  |  |
|  | 11) 4.63           |         | 12) 7.41 |         | 13) 2.13  |                | 14) 5.41 |         | 15) 5.69 |   |  |  |  |  |
|  | 16) 9.38           |         | 17) 3.19 |         | 18) 7.69  |                | 19) 5.26 |         | 20) 2.00 |   |  |  |  |  |
| $\bar{b} = \frac{\sum_{i=1}^I b_i}{n}$   |                    |         |          |         | $\bar{b} = \frac{95}{20} = 4.75$                          |                |          |         |          |   |  |  |  |  |
| $\overline{\%b} = \frac{\sum_{i=1}^I \%b_i}{n}$  |                    |         |          |         | $\overline{\%b} = \frac{90.74}{20} = 4.54$                |                |          |         |          |   |  |  |  |  |
| $s_{\bar{b}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^I (b_i - \bar{b})^2}{n-1}}$  |                    |         |          |         | $s_{\bar{b}} = \sqrt{\frac{381.75}{20-1}} = 4.48$         |                |          |         |          |   |  |  |  |  |
| $s_{\overline{\%b}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^I (\%b_i - \overline{\%b})^2}{n-1}}$  |                    |         |          |         | $s_{\overline{\%b}} = \sqrt{\frac{201.04}{20-1}} = 3.25$  |                |          |         |          |   |  |  |  |  |
| Verifikasyon Limiti <sub>(bias)</sub><br>$= \beta - \frac{t_{1-\frac{\alpha}{2}, n-1} \cdot s_{\bar{b}}}{\sqrt{n}}$ ve $\beta + \frac{t_{1-\frac{\alpha}{2}, n-1} \cdot s_{\bar{b}}}{\sqrt{n}}$            |                    |         |          |         | $= 2.80 - \frac{2.861 \cdot 4.48}{\sqrt{20}}$<br>$= 0.70$ |                |          |         |          | $= 2.80 + \frac{2.861 \cdot 4.48}{\sqrt{20}}$<br>$= 4.90$ |  |  |  |  |
| Verifikasyon Limiti <sub>(%bias)</sub><br>$= \%b - \frac{t_{1-\frac{\alpha}{2}, n-1} \cdot s_{\overline{\%b}}}{\sqrt{n}}$ ve $\%b + \frac{t_{1-\frac{\alpha}{2}, n-1} \cdot s_{\overline{\%b}}}{\sqrt{n}}$ |                    |         |          |         | $= 3.08 - \frac{2.861 \cdot 3.25}{\sqrt{20}}$<br>$= 1.56$ |                |          |         |          | $= 3.08 + \frac{2.861 \cdot 3.25}{\sqrt{20}}$<br>$= 4.60$ |  |  |  |  |

and trueness) benzer kavramlar olmakla birlikte, bu çalışmada EP15-A2 (3) rehberinde belirtildiği şekilde “gerçeklik” hesaplanmıştır.

EP15-A2 rehberinde, bias hesabı için iki farklı yol önerilmektedir. Bunlar; hasta örnekleri ile iki yöntemin kıyaslanması ya da referans materyal kullanılmasıdır (3). Bu çalışmada biasın hesaplanmasında hasta örnekleri kullanılmıştır. Bunun için rutin tetkikler için laboratuvara gelen örnekler arasından 20 adet hasta serumu seçilmiştir. Hasta serumları seçilirken, laboratuvarın imkanları ölçüsünde, ölçüm aralığını içine alacak şekilde düşük, orta ve yüksek düzeyli analit içeren serumlar seçilmeye çalışılmıştır. Karşılaştırma (referans) prosedürü olarak, laboratuvarda kurulu bulunan BS 800M (Mindray) biyokimya otoanalizörü kullanılmıştır. Seçilen hasta örnekleri, her gün dört hasta çalışılmak suretiyle toplam beş gün içinde Spotchem EZ ve BS 800M cihazlarının her ikisinde de çalışılmıştır. Cihazların günlük kalite kontrol sonuçlarının normal sınırlar dahilinde olduğu görüldükten sonra hasta serumları çalışmaya alınmıştır. Sonuçlar kayıt altına alınarak bias hesaplanmıştır.

### 2.1 Bias ve %bias hesaplanması

Bireysel örnek biası (bi) (her bir örnek için iki yöntem arası fark) hesaplanmasında aşağıdaki formüllerden yararlanılmıştır.

$$b_i = (\text{test edilen prosedür sonucu} - \text{karşılaştırılan prosedür sonucu})$$

$$\%b_i = \frac{(\text{test edilen prosedür sonucu} - \text{karşılaştırılan prosedür sonucu})}{\text{karşılaştırılan prosedür sonucu}}$$

\*Test edilen prosedür: Spotchem EZ SP-4430(Arkay) kuru kimya cihazı

\*\*Karşılaştırılan prosedür: BS 800M (Mindray) otoanalizörü

Rapor edilebilir ünite ya da yüzde değer olarak iki yöntem arası biasın hesaplanması aşağıdaki formüllere göre yapılmıştır.

$$\bar{b} = \frac{\sum_{i=1}^n b_i}{n} \quad \overline{\%b} = \frac{\sum_{i=1}^n \%b_i}{n}$$

n: Örnek sayısı (20 hasta serumu)

Hesaplanan bias ve %bias için aşağıdaki formüllere göre standart sapma bulunmuştur.

$$S_b = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (b_i - \bar{b})^2}{n-1}} \quad S_{\%b} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\%b_i - \overline{\%b})^2}{n-1}}$$

### 2.2 Bias ve %bias için verifikasyon limitlerinin hesaplanması

Ticari firmanın kit prospektüsündeki bias değerleri kullanılarak aşağıdaki formüllere göre verifikasyon limitleri hesaplanmıştır. Hesaplanan bias ya da %bias, verifikasyon limitleri içinde ise test edilen prosedürün gerçekliği kabul edilebilir olarak değerlendirilmiştir.

$$\text{Verifikasyon Limiti}_{(bias)} = \beta - \frac{t_{1-\alpha/2, n-1} \cdot S_b}{\sqrt{n}} \quad \text{ve} \quad \beta + \frac{t_{1-\alpha/2, n-1} \cdot S_b}{\sqrt{n}}$$

$$\text{Verifikasyon Limiti}_{(\%bias)} = \beta - \frac{t_{1-\alpha/2, n-1} \cdot S_{\%b}}{\sqrt{n}} \quad \text{ve} \quad \beta + \frac{t_{1-\alpha/2, n-1} \cdot S_{\%b}}{\sqrt{n}}$$

$t_{1-\alpha/2, n-1}$ : 2.861 (t tablosundan yirmi örnek için bulunan değer)

$\beta$ : Ticari firma kit prospektüsünde belirtilen bias değeri (yüzde bias hesaplanırken % olarak kullanılmıştır)

### BULGULAR

Bu çalışma kapsamında belirlenen çalışma içi kesinlik değerleri (within-run,  $S_r$ ) bias ve verifikasyon değerleri Tablo 3 ve Tablo 4’de özetlenmiştir. Çalışma içi kesinlik değerleri, verifikasyon değerinden küçük ya da eşit olan testlerin performansı kabul edilebilir olarak değerlendirilirken; çalışma içi kesinliği, verifikasyon değerinden büyük olan testlerin performansı kabul edilemez olarak nitelendirilmektedir. Bu durumda, üretici firma ile temasa geçilmesi ve daha geniş kapsamlı bir çalışma yapılması gerektiği belirtilmektedir.

Tablo 3’de gösterildiği üzere çalışma içi kesinlik değeri (within-run,  $S_r$ ) glikoz, üre, kreatinin, AST, TBIL ve kolesterolün her iki seviyesi, kalsiyum ve ALT’nin birinci seviyesi için verifikasyon değerinden küçük olarak hesaplanmış iken, kalsiyum ve ALT’nin ikinci seviyesi için verifikasyon değerinden büyük bulunmuştur.

Tablo 4’de, hesaplanan bias ve %bias değerleri ile firma verileri kullanılarak hesaplanan verifikasyon

**Tablo 3.** Test edilen parametrelerin çalışma içi kesinlik ve verifikasyon değerleri

| Parametre          | Kontrol Seviyesi | Ortalama Konsantrasyon | S <sub>r</sub> (çalışma içi kesinlik) | Verifikasyon Değeri |
|--------------------|------------------|------------------------|---------------------------------------|---------------------|
| Glikoz (mg/dL)     | 1.seviye         | 92,60                  | 2,11                                  | 3,98                |
|                    | 2.seviye         | 193,93                 | 6,50                                  | 6,94                |
| Kolesterol (mg/dL) | 1.seviye         | 160,73                 | 2,82                                  | 6,21                |
|                    | 2.seviye         | 289,60                 | 4,23                                  | 9,12                |
| Üre (mg/dL)        | 1.seviye         | 15,86                  | 0,26                                  | 0,70                |
|                    | 2.seviye         | 42,98                  | 1,32                                  | 1,85                |
| AST (IU/L)         | 1.seviye         | 34,93                  | 0,81                                  | 1,75                |
|                    | 2.seviye         | 105,13                 | 2,19                                  | 3,16                |
| ALT (IU/L)         | 1.seviye         | 28,14                  | 1,03                                  | 1,77                |
|                    | 2.seviye         | 98,60                  | <u>2,18*</u>                          | 2,12                |
| T. Bil. (mg/dL)    | 1.seviye         | 1,31                   | 0,03                                  | 0,08                |
|                    | 2.seviye         | 6,11                   | 0,08                                  | 0,18                |
| Kalsiyum (mg/dL)   | 1.seviye         | 7,65                   | 0,27                                  | 0,37                |
|                    | 2.seviye         | 9,43                   | <u>0,41*</u>                          | 0,30                |

\*Kesinlik değeri verifikasyon değerinden büyük olanlar altı çizgili ve koyu olarak gösterilmiştir.

**Tablo 4.** Test edilen parametrelerin bias değerleri ve verifikasyon limitleri

| Parametre  | Bias   | Verifikasyon limiti | %Bias         | %Verifikasyon limiti |
|------------|--------|---------------------|---------------|----------------------|
| Glikoz     | 4,75   | -0,07 - 5,67        | 4,54          | 1,00 - 5,16          |
| Kolesterol | -10,5  | -12,83 - 5,83       | -4,61         | -6,42 - 2,42         |
| BUN        | 0,25   | -1,56 - 1,76        | 2,21          | -5,74 - 6,92         |
| AST        | 1,5    | -4,23 - 3,23        | 12,00         | -20,02 - 16,32       |
| ALT        | 1,05   | -3,29 - 3,49        | 12,05         | -22,00 - 22,84       |
| T. Bil.    | -0,04  | -0,05 - 0,15        | -3,44         | -17,50 - 26,60       |
| Kalsiyum   | -0,61* | -0,04 - 0,52        | <u>-5,99*</u> | -0,19 - 5,47         |

\*Kesinlik değeri verifikasyon değerinden büyük olanlar altı çizgili ve koyu olarak gösterilmiştir.

limitleri gösterilmiştir. Buna göre; glikoz, kolesterol, üre, AST, ALT, TBIL için belirlenen bias değeri, hesaplanan verifikasyon limitleri içinde yer almıştır. Ancak, kalsiyum testinin bias değeri hesaplanan verifikasyon limitlerinin dışında bulunmuştur.

### TARTIŞMA

Tıbbi laboratuvarlarda ölçülen testlerin klinik yorumuna etkisi düşünüldüğünde, her bir test sonucunun doğru ve tekrarlanabilir özellikte olması çok önemlidir. CLSI tarafından yayınlanan EP15-A2 numaralı rehber, klinik laboratuvarlara kurulacak bir yöntem için firma

tarafından belirtilen kesinlik ve gerçeklik performans verilerinin doğrulanması amacıyla yapılması gereken işlemleri içermektedir (3). Bu çalışmada, belirtilen rehber doğrultusunda, laboratuvara kurulması planlanan kuru kimya cihaz sistemiyle çalışılan bazı testlerin kesinlik ve gerçeklik performansları test edilmiştir.

Çalışma kapsamında performans değerlendirilmesine tabi tutulan testlerin çalışma içi kesinlik (within-run,  $S_1$ ) değerlerine bakıldığında, ALT ve kalsiyum testlerinin ikinci seviyeleri kabul edilebilir çalışma içi kesinlik değerlerine sahip değil iken; glikoz, kolesterol, üre, AST ve TBIL testlerinin kabul edilebilir çalışma içi kesinlik performansı gösterdikleri görülmüştür. Bias değerleri açısından ise kalsiyum dışındaki diğer testlerin kabul edilebilir olduğu belirlenmiştir.

ALT ve kalsiyum için ikinci seviye kontrol değerleri ile yapılan analizlerin çalışma içi kesinlik değerlerinin kabul edilebilir sınırların dışında oluşu, bu testlerin oransal bir hataya sahip olabilecekleri şeklinde yorumlanabilir. Bias değerleri açısından bakıldığında kalsiyum testinin daha kapsamlı bir çalışma ile değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir. Ancak ALT testinin bias değerleri kabul edilebilir bir performans göstermiştir. Bu nedenle, ALT testinin kesinlik değerlendirilmesi için ikiden fazla konsantrasyonu içeren ve daha geniş kapsamlı bir çalışma yapılmasının uygun olacağı düşünülmüştür.

Literatüre bakıldığında, Spotchem EZ SP-4430 cihazı için tıbbi laboratuvarlarda yapılmış benzer bir çalışma bulunmamıştır. Bu nedenle de çalışmanın bir ön değerlendirme açısından ilgililere fayda sağlaması muhtemeldir.

Çalışmanın bir diğer önemli yanı ise küçük ilçe hastanesi laboratuvarları gibi tıbbi laboratuvar

teknikeri temini ve teknik servis desteği sağlanmasında sıkıntı yaşanabilen yerlerde, kuru kimya cihaz sistemlerinin sulu sistem biyokimya otoanalizörlerinin yerine kullanılıp kullanılmayacağı noktasında bir ön bilgi teşkil edebilecek mahiyette olmasıdır.

Çalışmamızın bazı kısıtlılıklara sahip olduğu söylenebilir. Bu kapsamda; çalışmada değerlendirilen testler için EP15-A2 rehberinde belirtilen laboratuvar içi kesinlik değeri (within-laboratory,  $S_1$ ), üretici firmanın test prospektüsünde laboratuvar içi kesinlik verilerine yer verilmediğinden dolayı değerlendirilememiştir. Benzer şekilde, bias değerleri için verifikasyon limitleri değerlendirilirken; üretici firmanın prospektüsünde bias değerlerini elde ederken hangi yöntem ve cihaz ile kıyaslama yaptığı bilgisi bulunmamaktadır. Üretici firmaların bu değerleri, kit prospektüslerinde bulundurmalarının klinik laboratuvarlarda yapılan bu ve benzer verifikasyon çalışmaları açısından gerekli ve önemli olduğu düşünülmektedir. Ancak bu çalışma, laboratuvarında kurulu bulunan Mindray BS 800M cihazı referans alınarak elde edilen bias değerleri ile bir verifikasyon kıyaslamasının yapılmış olması ve üretici firmanın prospektüsünde belirtilen bias değerlerinin laboratuvarında kurulu bulunan cihazlar arasında geçerli olup olmadığının değerlendirilmesi açısından önem arz etmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışma kapsamında değerlendirilen kalsiyum ve ALT dışındaki testler için çalışma içi kesinlik ve bias değerlerinin prospektüste belirtilen değerler ile uyumlu olduğu ancak, kalsiyum testinin çalışma içi kesinlik ve bias açısından, ALT testinin ise çalışma içi kesinlik değerleri açısından daha geniş kapsamlı çalışmalarla değerlendirilmesinin uygun olacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Bilić-Zulle L. Comparison of methods: passing and bablok regression. *Biochemia Medica*, 2011; 21(1):49-52.
2. Anonymous. Uluslararası Metroloji Sözlüğü – Temel Ve Genel Kavramlar, İlgili Terimler (VIM). [http://www.ume.tubitak.gov.tr/sites/images/uluslararasi\\_metroloji\\_sozlugu.pdf](http://www.ume.tubitak.gov.tr/sites/images/uluslararasi_metroloji_sozlugu.pdf), (Erişim Tarihi: 25/08/2017).
3. Anonymous. User Verification of Performance for Precision and Trueness, Approved Guideline EP15-A2. 2nd ed. Wayne, Pa: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
4. Hanneman SK. Design, analysis and interpretation of method-comparison studies. *AACN Adv Crit Care*, 2008;19(2): 223-4.

## Moleküler mikrobiyoloji laboratuvarında ortam kontrolü nasıl yapılır?

### How to control of the workspace environment in the molecular microbiology laboratory?

Dilek GÜLDEMİR<sup>1</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarında in-vitro amplifikasyon reaksiyonu (IVAR, İn vitro Amplifikasyon Reaksiyonları) ürünleri ile çapraz kontaminasyon, çalışılan testlerde yanlış pozitifliğe neden olabilir. Bu durum, moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarında çok ciddi bir problemdir. Günümüzde moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarında iyi klinik laboratuvar uygulamaları (GCLP, Good Clinical Laboratory Practice) ile ilgili pek çok kaynak mevcut olmasına rağmen ortam kontrolünün nasıl yapılacağı hususunda halen özgün araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmanın amacı, moleküler mikrobiyoloji laboratuvarında ortam kontrolünün nasıl yapılabileceği konusunda edindiğimiz tecrübeleri paylaşmaktır.

**Yöntem:** Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığına bağlı, "Ulusal Moleküler Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı (UMMRL)"nda, TS EN ISO 15189 standardına dayalı kalite yönetim sistemi (KYS) kapsamındaki, kalite ve akreditasyon çalışmalarında ilk kez moleküler mikrobiyoloji laboratuvarında ortam kontrolünün nasıl yapılacağı hususu ele alınmış ve laboratuvar koşullarında optimize edilmiştir. Söz konusu çalışmalar; laboratuvar güvenliğine

#### ABSTRACT

**Objective:** Cross-contamination with the product of "in vitro amplification reactions (IVAR)" can cause false positive results in laboratory tests. This study is a more seriously problem for molecular microbiology laboratories. In the recent, although many sources can be obtained about good clinical laboratory practices (GCLP) for molecular microbiology laboratories, specific research is needed how to control of the workspace environment. The aim of this study, it is shared our laboratory experiences about control of the workspace environment for molecular microbiology laboratories.

**Methods:** In the scope of the quality management system (QMS) based on TS EN ISO 15189 standard in "Public Health General Directorate, Department of Microbiology Reference Laboratories, National Molecular Microbiology Reference Laboratory (NMMRL)", it was dealt how to control of the work space environment in the molecular microbiology laboratory for the first time, and it was optimized in the laboratory conditions. These experiments were conducted in accordance with laboratory safety and as a result an instruction (coded ÇT03 / MRLDB-06, dated 15.11.2014/01) was formed. In this instruction,

<sup>1</sup>Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Ulusal Moleküler Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Dilek GÜLDEMİR

Adnan Saygun Cad. No: 55 E Blok, 1. kat, Sıhhiye 06100 Ankara - Türkiye

Tel : +90 505 261 74 79

E-posta / E-mail : dilekg06@yahoo.com.tr

Geliş Tarihi / Received : 28.02.2018

Kabul Tarihi / Accepted : 22.03.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.83713

Güldemir D. Moleküler mikrobiyoloji laboratuvarında ortam kontrolü nasıl yapılır?  
Turk Hij Den Biyol Derg, 2018; 75(2): 135-142

uygun olacak şekilde yürütülmüş ve sonuç olarak bir talimat (ÇT03/MRLDB-06 kodlu ve 15.11.2014/01 tarihli) haline getirilmiştir. Bu talimatta, laboratuvarımızdaki çalışma ortamının kontrolü için, dokuz alan belirlenmiş, bu alanlardan ne şekilde örnek alınacağı, bu örneklerin nasıl test edileceği, sonuçların nasıl değerlendirileceği ve kayıt edileceği detaylı bir şekilde tarif edilmiştir. Seçilen alanlardan alınan örnekler, laboratuvarımızda optimize edilen sekans bazlı 16S rRNA testi ile analiz edilmiştir.

**Bulgular:** ÇT03/MRLDB-06 talimatı uyarınca, UMMRL'deki TS EN ISO 15189 standardına dayalı KYS kapsamındaki ortam kontrolü çalışmalarında, UMMRL'deki ortam kontrolü incelemelerinde, seçili alanlardan alınan örneklerin hiçbirinde nükleik asit kontaminasyonuna rastlanmamıştır. Elde edilen sonuçlar, ilgili kalite formları kullanılarak kayıt altına alınmıştır.

**Sonuç:** Moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarında çapraz bulaş ya da nükleik asit kontaminasyonunun önlenmesi için periyodik olarak ortam kontrolünün yapılması gereklidir. Günümüzde IVAR ürünlerinin kontrolü giderek önem kazanmakta ve laboratuvar akreditasyon kuruluşları sertifikasyon için klinik laboratuvarlarda, ortam kontrolünün sağlanmasını istemektedirler. Bu çalışmanın, moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarında ortam kontrolü ve laboratuvar güvenliği konularını ele alınırken ve bu konularda kendi ihtiyaçlarına yönelik talimatlar oluşturulurken yararlı olabileceği kanaatindeyiz.

**Anahtar Kelimeler:** çapraz kontaminasyon, ortam kontrolü, yanlış pozitiflik

nine areas have been identified in our laboratory for the control of the laboratory workspace environment, how these samples will be taken from these areas, how these samples will be tested, how the results will be assessed and how they will be recorded have been described in detail. The samples from the selected areas were analyzed with the sequence-based 16S rRNA assay optimized in our laboratory.

**Results:** According to the instructions of ÇT03 / MRLDB-06 within the scope of QMS based on TS EN ISO 15189 standard, nucleic acid contamination were not found in none of the samples taken from selected areas in NMMRL workspace environment control studies. The results obtained are recorded using the relevant quality forms.

**Conclusion:** Periodic control of the workspace environment in the molecular microbiology laboratory is required to prevent cross contamination or nucleic acid contamination. Today, control of IVAR products is getting more and more important, and laboratory accreditation organizations demand the control of the workspace environment in clinical laboratories for certification. We believe that this study can be useful when discussing workspace environment control and laboratory safety issues in molecular microbiology laboratories and preparing instructions for their own needs in this regard.

**Key Words:** cross contamination, control of the workspace environment, false positives

## GİRİŞ

Moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarında uygulanan başta polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) olmak üzere mikroorganizmaların hedef bölgelerini çoğaltmaya yönelik IVAR teknikleri, çalışma ortamının kontaminasyonuna neden olabilir (1). Özellikle PZR amplifikasyonu sonrası, ürünün görüntülenmesi işlemi sırasında amplikonlar ortama saçılırlar. Bu şekilde çalışma alanı nükleik asitlerle (çapraz

amplikon) kontamine olur. Burada ortaya çıkan kontaminasyon testlerimizde yanlış pozitifliğe neden olabilir, bu olay çapraz bulaş ya da kontaminasyon olarak adlandırılmakta olup, moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarında çok ciddi bir problemdir (1-4).

Ülkemizde, ilk kez 09 Mart 2010 tarihinde yayımlanan 27516 sayılı Yönetmelik ile "İyi Laboratuvar Uygulamaları (İLU)-Good Laboratory Practice (GLP);



klirik çalışmalar dışındaki sağlık ve çevre güvenliği çalışmalarının planlanması, yapılması, izlenmesi, kaydedilmesi, arşivlenmesi ve rapor edilmesi şartlarını ve yönetim usullerini içeren bir kalite güvence sistemi” olarak tarif edilmiş olup; denetimi “Ulusal İzleme Mercii” olarak Türk Akreditasyon Kurumu (TÜRKAK) tarafından yapılmaktadır (5).

Genel olarak ülkemizde, İLU'nun tıbbi laboratuvar uygulamalarını da kapsadığı kanaati yaygındır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2003 yılında, klinik laboratuvarlar için “*Good Clinical Laboratory Practice (GCLP)*” yani iyi klinik laboratuvar uygulamaları rehberini yayınlamıştır (6). Ülkemizde de klinik laboratuvarlar için GCLP ile uyumlu mevzuat çalışmalarına ve rehberlere ihtiyaç duyulduğu aşikardır. Esasen organizasyon ve personel sorumlulukları ile kalite politikası ve standartları gibi genel prensiplerinin tarif edildiği GCLP’de yer alan ilkeler, moleküler mikrobiyoloji laboratuvarları için de geçerlidir. Ancak, bunlara ilaveten alınması gereken ve moleküler tabanlı testlere spesifik bazı önlem ve düzenlemeler mevcuttur (1, 7).

Nükleik asitler ile çapraz bulaşı önlemek veya en aza indirmek üzere moleküler mikrobiyoloji laboratuvarları için tarif edilen GCLP uygulamalarına riayet edilmesine rağmen, ortam kontaminasyonu yine de ortaya çıkabilmektedir. Günümüzde in vitro amplifikasyon reaksiyonu ürünlerinin kontrolü konusu giderek önem kazanmaktadır. Laboratuvar akreditasyon kuruluşları, sertifikasyon için klinik laboratuvarlarda ortam kontrolünün sağlanmasını istemektedirler. Ancak moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarında ortam kontrolünün nasıl yapılacağı konusunda özgün araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır (1). Bu çalışmanın amacı, bir moleküler mikrobiyoloji laboratuvarında ortam kontrolü yapılırken nasıl bir yol izlenebileceği ile ilgili tecrübelerimizin paylaşılmasıdır.

### GEREÇ ve YÖNTEM

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığına bağlı, “Ulusal Moleküler Mikrobiyoloji

Referans Laboratuvarı (UMMRL)”de TS EN ISO 15189 standardına dayalı KYS kapsamında hazırlanan ÇT03/MRLDB-06 kodlu ve 15.11.2014/01 tarihli Biyogüvenlik Çalışma Talimatı dökümanında, ilk kez moleküler mikrobiyoloji laboratuvarında ortam kontrolünün nasıl yapılacağı hususu ele alınmıştır. Bu talimat, laboratuvar güvenliğine uygun olarak yürütülen optimizasyon çalışmaları sonucunda oluşturulmuştur. Biyogüvenlik Çalışma Talimatında, UMMRL çalışma ortamının kontrolü için dokuz farklı alan belirlenmiş olup, bu alanlardan hangi aralıklarla ve ne şekilde örnek alınacağı, örneklerin nasıl test edileceği, sonuçların nasıl değerlendirileceği ve kayıt altına alınacağı detaylı bir şekilde tarif edilmiştir. Ayrıca laboratuvarın rutin temizliği ile dekontaminasyonunun nasıl yapılacağı, ultraviyole (UV) lamba kullanımı ve etkinlik izlemesi ile ilgili detaylara da yer verilmiştir.

Ortam kontrolü çalışmasında, öncelikle laboratuvarında hangi alanların seçilmesi gerektiği konusu araştırılmış ve ardından öncelikli alanlar belirlenmiştir. Bu kapsamda, öncelikli alanlar arasında PZR kabinleri, biyogüvenlik kabinleri, masa ve tezgâh üstleri yer almıştır. UMMRL’de, ortamın nükleik asitler ile kontaminasyonun kontrol edileceği alanlar belirlenmiş ve ilgili talimatın 2.5-2.13 maddelerinde tanımlanmıştır. Bu alanlar; 1-Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi Laboratuvarı-Biyogüvenlik Kabini (RFLP-BGK), 2-Pulsed Field Jel Elektroferez Laboratuvarı-Biyogüvenlik Kabini (PFGE-BGK), 3-Nükleik Asit Ekstraksiyon Laboratuvarı-Biyogüvenlik Kabini (NAE-BGK), 4-Nükleik Asit Ekstraksiyon Laboratuvarı-Tezgah Üstü (NAE-TÜ), 5-DNA Dizi Analizi Laboratuvarı-Tezgah Üstü (DNA SEQ-TÜ), 6-Temiz Oda-PZR Kabini 1/Sağ (Temiz Oda-PZR-1), 7-Temiz Oda-PZR Kabini 2/Sol (Temiz Oda-PZR-2), 8-Nükleik Asit Amplifikasyon Laboratuvarı-PZR Kabini (NAA-PZR), 9-Nükleik Asit Amplifikasyon Laboratuvarı-Tezgah Üstü (NAA-TÜ) olarak talimatta yer almıştır.

Çeşitli uluslararası otoriteler, moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarında ortam kontrollerinin belirli aralıklarla periyodik olarak yapılması, bu aralıkların süresine, laboratuvarın iş yüküne ve çalıştığı

etkenlere göre laboratuvar tarafından karar verilmesi gerektiğine işaret etmektedir. Laboratuvarımızdaki mevcut koşullar dahilinde, ortam kontrolünün üç ayda bir yapılması uygun görülmüştür. Steril sentetik bir silgiç yardımıyla yukarıda belirtilen (1-9) alanlardan örnek alınmıştır. Alınan örneklerde, nükleik asit arandığı için herhangi bir ekstraksiyon işlemine tabi tutulmamıştır. Tüm ortamlardan alınan örnekler, sekans bazlı 16S rRNA PZR yöntemi ile amplifiye edilerek ortamda bakteri DNA bulunup bulunmadığı test edilmiştir. Testte kullanılan primerler ve bunlara ait oligonükleotit dizileri Tablo 1’de gösterilmiştir.

16S rRNA bölgesi bakterilerde ortak gen bölgesi olup, esasen klinik örneklerde bakteri varlığını göstermek ve ardından DNA dizi analizi ile saptanan bakteriyi tanımlamak amacı ile kullanılmaktadır (14). Laboratuvarımızda da esasen steril vücut sıvılarında bakteri araştırmak ve tanımlanmasında sorun yaşanan ya da doğrulanması gereken suşları tanımlamak amacıyla optimize edilmiştir. Ortak gen bölgesi hedeflerini tanıma kabiliyeti ve yüksek

duyarlılığı nedeniyle bu yöntemin, ortam kontrolü çalışmalarında, kullanışlı olacağı düşünülmüştür. Optimize ettiğimiz 16S rRNA PZR amplifikasyonu yönteminde; total 50 µL reaksiyon hacmi içerisine 2X PZR Master Miks (Thermo Scientific DreamTaq Green PZR Master Mix, Life Technologies; USA) ve 20 pmol primer (her biri) ve 5 µL kalıp DNA ilave edilmiştir. Isı döngüleri; 95 °C’de 15 dk. ilk denatürasyonu takiben, 40 siklus 94 °C’de 45 sn. denatürasyon, 58 °C’de 45 sn. bağlanma, 72 °C’de 1 dk. uzama ve son olarak 72 °C’de 10 dk. son uzama şeklindedir. Amplifikasyon ürünleri 0,5 µg/mL etidyum bromid boyası ilave edilmiş ve %2’lik agaroz jel kullanılarak görüntülenmiştir.

Sonuçlar değerlendirilerek ortam kontrolü formuna işlenmiştir. ÇT03/MRLDB-06; (i) tüm örneklerden elde edilen sonuçların negatif olması ile ortamın çalışma için uygun olduğu sonucuna varılacağı, (ii) araştırılan ortamların bir ya da daha fazlasında DNA/RNA varlığı saptanması durumunda nasıl bir yol izleneceği ve (iii) ortam temizliği ile ara kontrollerin nasıl yapılacağı konuları da detaylı bir şekilde anlatılmıştır.

**Tablo 1.** 16S rRNA genini hedef alan primerler ve oligonükleotit dizileri

| Primerler* | 5’-3’ oligonükleotit dizisi | Hedef organizma             | Kaynak numarası |
|------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------|
| 27F        | AGAGTTTGATYMTGGCTCAG        | Bakteri                     | (8)             |
| 355F       | ACTCCTACGGGAGGCAGC          | Bakteri                     | (9)             |
| 533F       | GTGCCAGCMGCCGCGGTAA         | Bakteri, Archaea ve Eukarya | (10)            |
| 930F       | TCAAAGAATTGACGGGGGC         | Bakteri                     | (11)            |
| 515R       | TTACCGCGCKGCTGGCAC          | Bakteri, Archaea ve Eukarya | (10)            |
| 787R       | GGACTACCAGGTATCTAAT         | Bakteri                     | (12)            |
| 1391R      | TGACGGGCGGTGWGTRCA          | Bakteri, Archaea ve Eukarya | (10)            |
| 1492R      | GGTACCTTGTACGACTT           | Bakteri, Archaea ve Eukarya | (13)            |

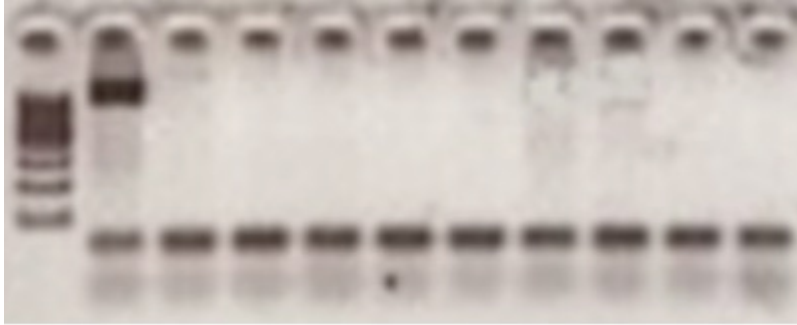
\*: 16S rRNA genini hedef alan primerler (F, forward; R, reverse).

## BULGULAR

Laboratuvar çalışma ortamının kontrolü için laboratuvarımızda, RFLP-BGK (1), PFGE-BGK (2), NAE-BGK (3), NAE-TÜ (4), DNA SEQ-TÜ (5), Temiz Oda-PZR-1 (6), Temiz Oda-PZR-2 (7), NAA-PZR (8), NAA-TÜ (9) olarak toplam dokuz (9) alan belirlenmiştir. Tüm ortamlardan alınan örnekler, 16S rRNA ile

amplifiye edilerek ortamda bakteri DNA'sının bulunup bulunmadığı kontrol edilmiştir (Şekil 1). Yapılan kontrollerin hiçbirinde ortamda mikroorganizma kontaminasyonuna rastlanılmamıştır. Elde edilen sonuçlar ortam kontrolü formuna işlenmiştir (Tablo 2).

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10



Şekil 1. Ortam kontrolü çalışması örneği-16S rRNA PCR amplifikasyonu

M:Moleküler ağırlık belirteci, 1000 bp, 1: Pozitif Kontrol, 2-10: Ortam kontrolü için seçilen alanlardan alınan örneklerle yapılan 16S rRNA PCR amplifikasyon sonuçları. Şekilde 2-10. çukurcuklarda sonuçların negatif olduğu yani ortamda kontaminasyona rastlanmadığı görülmektedir.

Tablo 2. Ortam Kontrolü Formu Kayıt Örneği

| Kontrol Tarihi | Kontrol Edilen Yer/Alan | Kontrol Yöntemi | Sonuç*  | Yorum** | Kontrol Eden*** |
|----------------|-------------------------|-----------------|---------|---------|-----------------|
| 15.03.2017     | RFLP-BGK (1)            | 16S rRNA        | Negatif | Uygun   | DG              |
| 15.03.2017     | PFGE-BGK (2)            | 16S rRNA        | Negatif | Uygun   | DG              |
| 15.03.2017     | NAE-BGK (3)             | 16S rRNA        | Negatif | Uygun   | DG              |
| 15.03.2017     | NAE-TÜ (4)              | 16S rRNA        | Negatif | Uygun   | DG              |
| 15.03.2017     | DNA SEQ-TÜ (5)          | 16S rRNA        | Negatif | Uygun   | DG              |
| 15.03.2017     | Temiz Oda-PZR-1 (6)     | 16S rRNA        | Negatif | Uygun   | DG              |
| 15.03.2017     | Temiz Oda-PZR-2 (7)     | 16S rRNA        | Negatif | Uygun   | DG              |
| 15.03.2017     | NAA-PZR (8)             | 16S rRNA        | Negatif | Uygun   | DG              |
| 15.03.2017     | NAA-TÜ (9)              | 16S rRNA        | Negatif | Uygun   | DG              |

\*: Pozitif (Kontrol edilen yer/alanda kontaminasyon mevcuttur) / Negatif (Kontrol edilen yer/alanda kontaminasyona rastlanılmamıştır). \*\*: Uygun (Ortam kontrolü sonuçları laboratuvar çalışmalarının yürütülmesi için uygun bulunmuştur) / Uygun değil (Ortam kontrolü sonuçları laboratuvar çalışmalarının yürütülmesi için uygun bulunmamıştır). \*\*\*: Ortam kontrolünü yapan/onaylayan kişinin, ismi/isminin kısaltması/izması/parafı.

## TARTIŞMA

Moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarında uygulanan in-vitro amplifikasyon tekniklerinin çapraz bulaşa neden olabileceği konusu uzun zamandır bilinmekte olup, bunu önlemek ya da en aza indirmek için ne tür önlemler alınması ya da düzenlemeler yapılması gerektiği konusunun gündeme gelmesi ise PZR tekniğinin kullanıma girmesiyle neredeyse paraleldir. Testlerde yanlış pozitifliğe yol açan çapraz bulaş, moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarında çok ciddi bir problemdir. Çünkü (i) PZR gibi testlerde hedef molekülün siklus sayısına göre yaklaşık  $n^{35-40}$  kopyası üretilir ve (ii) testlerin duyarlılığı oldukça yüksektir (1-4). İşte bu nedenlerle, moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarında gerekli tedbirler alınmazsa, çapraz bulaş kaçınılmaz bir sonuçtur. Dahası ortamın çapraz amplikonlarla kontamine olması, laboratuvarında çalışılan tüm IVAR testlerinde yanlış pozitifliğe neden olabileceğinden laboratuvarın faaliyetinin durdurulmasını gerektirir.

Çapraz bulaş problemini önlemek için moleküler mikrobiyoloji laboratuvarında GCLP’de yer alan genel prensiplere ilave tedbirler alınmalıdır. Bu sayede, moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarında çalışma esnasında kullanılan/elde edilen materyale dışarıdan herhangi bir bulaşın önlenmesi veya en aza indirilmesi mümkün olabilir (1,7).

Bunların başında çalışma alanının “temiz alan” ve “kirlili alan” olarak ayrılması ve bunun için en az iki odanın belirlenmesi gelmektedir. IVAR reaktifleri ve örneklerin hazırlanması için bir oda (PRE-IVAR) belirlenmeli ve bu alanda POST-IVAR tüpleri veya DNA/RNA kesinlikle girmemelidir. Agaroz jel elektroforez ve görüntüleme gibi POST-IVAR işlemler için, PRE-IVAR odasından fiziksel olarak ayrılmış ikinci bir oda gereklidir. Mümkünse bu iki odada, *hava-kilidi* sistemi ile hava basıncının düzenlenmesi ve PRE-IVAR içerisinde PZR reaktifleri ve master mikslerin hazırlanması için bir *clean room* (temiz oda) dizayn edilmesi önerilmektedir. Temiz odada pozitif hava basıncı, POST-IVAR odada ise negatif hava basıncı sağlanması amplikonların kirlili alandan temiz alana bulaşını önlemede oldukça etkilidir (15-17).

Moleküler mikrobiyoloji laboratuvarında, çapraz bulaşı önlemek için PRE ve POST-IVAR alanlarda kullanılan otomatik pipetler, pipet uçları, eldivenler, küçük masa üstü santrifüjleri, tüp sporları başta olmak üzere tüm cihaz ve ekipmanlar tamamen ayrılmalı, bunlar laboratuvarlar arasında taşınmamalıdır (7,15). Ayrıca mümkünse bu alanlarda çalışan laboratuvar personeli de ayrı olmalı, laboratuvarlar arası personel hareketliliği kısıtlanmalıdır. Eğer bu mümkün değilse, laboratuvar çalışanı bir alandan diğerine geçerken önlük ve eldiven gibi kişisel koruyucu donanımlarını değiştirmelidir. Farklı renklerdeki laboratuvar önlükleri bu amaçla kullanılabilir.

Bir diğer önemli konu da, örnek akış yönünün tek yönlü olmasıdır. Moleküler mikrobiyoloji laboratuvarına gelen örnekler işlenirken sırasıyla (i) DNA ekstraksiyon/izolasyonu, (ii) nükleik asit amplifikasyonu ve (iii) agaroz jel elektroforez ile görüntüleme işlemlerinin gerçekleştirileceği bir iş akışı oluşturulması ve buna uyulmasıdır. Temiz alanda PZR ve benzeri uygulamaların reaktifleri uygun miktarlarda alikotlanmış olarak bulundurulmalı, uzun süreli saklama sınırlandırılmalıdır. Nükleik asit amplifikasyonunun temel aşaması olan master miks hazırlama işlemi temiz odada, buraya kalıp DNA’nın eklenmesi ve amplifikasyon ve diğer tüm POST-IVAR işlemleri kirlili alanda yapılmalıdır. Amplifikasyon ürünleri sadece POST-IVAR alanda açılmalı, başka hiçbir yerde açılmamalıdır. Burada kullanılan agaroz veya akrilamid jelleri, hibridizasyon kağıdı, hibridizasyon çözeltileri, POST-IVAR tüpleri, tek kullanımlık pipetler ve yıkama çözeltileri gibi tüm reaktif ve malzemeler uygun şekilde dekontamine edildikten sonra atık konteynerlerine atılmalıdır (16).

Bunların dışında günlük rutin uygulamalarda, temizliğin sağlanması ve UV ile ortamın amplikonlardan arındırılması gibi konular bilhassa önem arz etmektedir. Moleküler laboratuvarlarında çapraz bulaşın önlenmesi konusunda pek çok çalışma mevcuttur (1-4). Ancak son zamanlardaki çalışmalarda, dezenfektanların etkinliği ve bu konuda kullanıma giren ticari kitler konusu ön plana çıkmıştır (18). Esasen dezenfektanların etkinliğinin

belirlenmesi için standardize edilmiş ulusal ve uluslararası rehberler bulunmaktadır (19, 20). Sodyum hipoklorit, moleküler laboratuvarları için kullanışlı bir dezenfektan olup, hazırlaması kolay ve ucuz olduğu için yaygın olarak kullanılmaktadır (21, 22). Diğer yandan, UV ışınının DNA üzerinde birbirine komşu iki pirimidin arasında kovalent bağ oluşumuna neden olduğu, bunun da çapraz amplikonları inaktive ettiği bilinmektedir (23-25). Bu nedenle, moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarında UV lamba kullanımı bir diğer önemli gereklilik olarak dikkati çekmektedir. Laboratuvarımız moleküler mikrobiyoloji laboratuvarları için yeterli alt yapı ve diğer gereklilikleri sağlamıştır. Bunun yanı sıra TS EN ISO 15189 standardına dayalı KYS kapsamındaki kalite ve akreditasyon çalışmalarında, bir talimat oluşturularak (ÇT03/MRLDB-06) ortam kontrolünün nasıl yapılacağı, çapraz bulaş ile karşılaşılması durumunda nasıl bir yol izleneceği ve daha önemlisi çapraz bulaş sorunu ile karşılaşmamak veya bu sorunu en aza indirmek için günlük rutin uygulamalarda temizliğin/dekontaminasyonun nasıl yapılacağı, UV lamba kullanımı gibi diğer işlemlere de detaylı bir şekilde yer verilmiştir.

Moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarında, çapraz bulaşın tespit edilmesi konusunda kullanılacak yöntemler ile ilgili güncel çalışmalar mevcuttur. Son zamanlarda, özellikle sekans bazlı 16S rRNA yönteminin bulaş tespitinde kullanışlı olabileceği konusu gündeme gelmiştir (26). Bu konudaki genel yaklaşımın bulaş ortaya çıktıktan sonra kaynağının araştırılması

şeklinde olduğu söylenebilir. Bu çalışmada ise bulaş sorunu ile karşılaşılması için ortamın kontrolü konusu ele alınmıştır. Laboratuvarımızda, ortam kontrolü için alınan örnekler, ilk başta içerisinde bulunan dönemde laboratuvarında çalışılmakta olan mikroorganizmalara özgü primerlerle ayrı ayrı test edilirken, sonraları ise 16S rRNA yönteminin daha kullanışlı olacağı düşüncesi hakim olmuştur. 16S rRNA yönteminde kullanılan primerler, mikroorganizmaların ortak gen bölgelerini hedef aldığı için ortamda bulaş varsa saptayabilecek, ardından yapılacak DNA dizi analizi işlemi ile de bulaşa neden olan organizmanın tanımlanması mümkün olabilecektir. 16S rRNA yöntemi oldukça yüksek duyarlılıkta olmasının yanı sıra iş ve zaman gücünden tasarruf sağlaması açısından laboratuvarımızda ortam kontrolü çalışmalarında kullanışlı bir yöntem olarak seçilmiştir.

Günümüzde, in vitro amplifikasyon reaksiyonu ürünlerinin kontrolü konusu giderek önem kazanmaktadır. Laboratuvar akreditasyon kuruluşları sertifikasyon için klinik laboratuvarlarda ortam kontrolünün sağlanmasını istemektedirler. Moleküler mikrobiyoloji laboratuvarları için GCLP uygulamaları ile ilgili pek çok kaynak bulunmaktadır. Ancak ortam kontrolünün nasıl yapılacağı konusunda özgün araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmanın, moleküler mikrobiyoloji laboratuvarlarında ortam kontrolü ve laboratuvar güvenliği konularını ele alınırken ve bu konularda kendi ihtiyaçlarına yönelik talimatlar hazırlanırken yararlı olabileceği kanaatindeyiz.

## KAYNAKLAR

1. Mifflin TE. Control of contamination associated with PCR and other amplification reactions. Clin Chem News, 1992; 18: 8-15.
2. Lo YM, Mehal WZ, Fleming KA. False-positive results and the polymerase chain reaction. Lancet, 1988; 2(8612): 679.
3. Kitchin PA, Szotyori Z, Fromholz C, Almond N. Avoidance of PCR false positives. Nature, 1990; 344(6263): 201.
4. Hughes T, Janssen JW, Morgan G, Martiat P, Saglio G, Pignon JM, et al. False-positive results with PCR to detect leukaemia-specific transcript. Lancet, 1990; 335(8696): 1037-8.
5. Anonymous. İyi Laboratuvar Uygulamaları Prensipleri ve Test Laboratuvarlarının Belgelendirilmesine Dair Yönetmelik. <https://www.saglik.gov.tr/TR,10450/iyi-laboratuvar-uygulamaları-prensipleri-ve-test-laboratuvarlarının-belgelendirilmesine-dair-yonetmelik.html>, (Erişim Tarihi: 25.02.2018).

6. Anonymous. Good Clinical Laboratory Practice (GCLP). <http://www.who.int/tdr/publications/documents/gclp-web.pdf>, (Erişim Tarihi: 25.02.2018).
7. Viana RV, Wallis CL. Good clinical laboratory practice (GCLP) for molecular based tests used in diagnostic laboratories. In: Akyar I, ed. *Wide Spectra of Quality Control*. 1st ed. Rijeka, Croatia: Intech, 2011: 30-34.
8. Edwards U, Rogall T, Blöcker H, Emde M, Böttger EC. Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. *Nucleic Acids Res*, 1989; 17(19): 7843-53.
9. Amann RI, Krumholz L, Stahl DA. Fluorescent-oligonucleotide probing of whole cells for determinative, phylogenetic, and environmental studies in microbiology. *J Bacteriol*, 1990; 172(2): 762-70.
10. Lane DJ, Pace B, Olsen GJ, Stahl DA, Sogin ML, Pace NR. Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analyses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1985; 82(20): 6955-9.
11. Relman DA, Schmidt TM, MacDermott RP, Falkow S. Identification of the uncultured bacillus of Whipple's disease. *N Engl J Med*, 1992; 327(5): 293-301.
12. Wilson KH, Blichington RB, Greene RC. Amplification of bacterial 16S ribosomal DNA with polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*, 1990; 28(9): 1942-6.
13. Eden PA, Schmidt TM, Blakemore RP, Pace NR. Phylogenetic analysis of *Aquaspirillum magnetotacticum* using polymerase chain reaction-amplified 16S rRNA-specific DNA. *Int J Syst Bacteriol*, 1991; 41(2): 324-5.
14. Maiwald M. Broad-range PCR for detection and identification of bacteria. In: Persing DH, Tenover FC, Tang YW, Nolte FS, Hayden RT, van Belkum A, eds. *Molecular Microbiology: Diagnostic Principles And Practice*. 2nd edition. Washington DC: American Society for Microbiology. 2011: 491-505.
15. Kwok S, Higuchi R. Avoiding false positives with PCR. *Nature*, 1989; 339(6221): 237-8.
16. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Press, 1989.
17. Kwok S. Procedures to minimize PCR product carryover. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. San Diego: Academic Press, 1990: 142-5.
18. Fischer M, Renevey N, Thür B, Hoffmann D, Beer M, Hoffmann B. Efficacy assessment of nucleic acid decontamination reagents used in molecular diagnostic laboratories. *PLoS One*, 2016; 11(7): e0159274.
19. van Klingeren B, Koller W, Bloomfield SF, Böhm R, Cremieux A, Holah J, et al. Assessment of the efficacy of disinfectants on surfaces. *Int Biodeter Biodegr*, 1998; 41(3-4): 289-96.
20. Reybrouck G. The testing of disinfectants. *Int Biodeter Biodegr*, 1998; 41(3-4): 269-72.
21. Vandewoestyne M, Van Hoofstat D, De Groot S, Van Thuyne N, Haerinck S, Van Nieuwerburgh F, et al. Sources of DNA contamination and decontamination procedures in the forensic laboratory. *J Forensic Res*, 2011; (2): S2-001.
22. Prince AM, Andrus L. PCR: how to kill unwanted DNA. *Biotechniques*, 1992; 12(3): 358-60.
23. Ou CY, Moore JL, Schochetman G. Use of UV irradiation to reduce false positivity in polymerase chain reaction. *Biotechniques*, 1991; 10(4): 442-5.
24. Niederhauser C, Höfelein C, Wegmüller B, Lüthy J, Candrian U. Reliability of PCR decontamination systems. *PCR Methods Appl*, 1994; 4(2): 117-23.
25. Pao CC, Hor JJ, Tsai PL, Horng MY. Inhibition of in vitro enzymatic DNA amplification reaction by ultraviolet light irradiation. *Mol Cell Probes*, 1993; 7(3): 217-9.
26. Salter SJ, Cox MJ, Turek EM, Calus ST, Cookson WO, Moffatt MF, et al. Reagent and laboratory contamination can critically impact sequence-based microbiome analyses. *BMC Biol*, 2014; 12: 87.

## TS EN ISO/IEC 17025 standart kapsamında akredite olan su laboratuvarlarında müşteri memnuniyetinin değerlendirilmesi

### Evaluation of customer satisfaction in water laboratories which are accredited within the scope of TS EN ISO/IEC 17025 standard

Pınar KAYNAR<sup>1</sup>, Mukaddes ŞENSES<sup>1</sup>, Sibel KARACA<sup>1</sup>, Yıldırım CESARETLİ<sup>1</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** TS EN ISO/IEC 17025 "Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği için Genel Şartlar" başlıklı standart; numune alma dahil, deney ve/veya kalibrasyon hizmeti veren bir laboratuvarın yeterliliğinin tanınması için sağlaması gereken genel şartları kapsamaktadır. Bu standardın 4.7.2. maddesi; laboratuvarın müşterilerinden hem olumlu hem de olumsuz geri besleme bilgilerini almasını, bu bilgilerin yönetim sistemini, deney ve kalibrasyon faaliyetlerini ve müşteri hizmetlerini iyileştirmek için analiz edilmesini ve kullanılmasını ifade etmektedir. Bu çalışma ile TS EN ISO/IEC 17025 standardı kapsamında akredite olan mikrobiyolojik ve kimyasal su laboratuvarlarının yürüttüğü faaliyetlerin müşteri memnuniyeti yönünden değerlendirilmesi ve değerlendirme sonucunda yönetim sisteminin kontrol edilmesi, laboratuvar hizmetlerinde iyileştirmelerin yapılması açısından müşteri memnuniyetinin öneminin ortaya konulması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** 01.01.2016 - 31.12.2016 tarihleri arasında, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Tüketici Güvenliği Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığının TS EN ISO/IEC 17025 standardı kapsamında akredite olan mikrobiyolojik ve kimyasal su laboratuvarlarından analiz

#### ABSTRACT

**Objective:** TS EN ISO/IEC 17025 standard which is titled "General Requirements For The Competence of Testing and Calibration Laboratories" specifies the general requirements for the competence to carry out tests and/or calibrations, including sampling. In the 4.7.2 article of this standard, it is stated that customers both positive and negative comments which is obtained on laboratory services should be part of customer feedback. These comments should be analyzed and used for its management system, test/calibration activities and improvements of customer services. In this study, the activities of the microbiological and chemical water laboratories, which were accredited within the scope of TS EN ISO/IEC 17025, were evaluated for customer satisfaction. As evaluation results, the significance of customer satisfaction in terms of controlling the management system and improvements in laboratory services is highlighted.

**Methods:** In the period 01.01.2016 - 31.12.2016, for a determination of customer satisfaction which was obtained on analysis services of the microbiological and chemical water laboratories, accredited within the scope of TS EN ISO/IEC 17025 of Department of

<sup>1</sup>Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Pınar KAYNAR

Halk Sağlığı Gen. Müd., Tük. Güv. ve Halk Sağ. Lab. Dai. Bşk., Sıhhiye 06100 Ankara - Türkiye

Tel : +90 312 565 51 52

E-posta / E-mail : pinar.kaynar@saglik.gov.tr

Geliş Tarihi / Received : 18.09.2017

Kabul Tarihi / Accepted : 23.03.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.74508

Kaynar P, Şenses M, Karaca S, Cesaretlı Y. TS EN ISO/IEC 17025 standart kapsamında akredite olan su laboratuvarlarında müşteri memnuniyetinin değerlendirilmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2018; 75(2): 143-152

hizmeti alımı yapan müşterilerin memnuniyetlerinin belirlenmesi için 1'den 5'e kadar puanlama yaparak 10 adet anket sorusunu yanıtlamaları ve varsa önerilerini yazmaları istenmiştir. Yanıtlanan anket formları incelenmiş ve inceleme sonucunda, anket sorularına verilen yanıtların ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanarak değerlendirme yapılmıştır. Yapılan değerlendirme sonucunda; düzeltme yapılacak durumlar için düzeltme uygulanmasına, potansiyel uygunsuzluklar için düzeltici faaliyetler başlatılmasına ve/veya anket sorularının yanıtlarının "1" veya "2" puanlı olduğunda ya da memnuniyetsizlik ifadeleri yer aldığı da düzeltici faaliyet başlatılmasına karar verilmiştir.

**Bulgular:** 01.01.2016 - 31.12.2016 tarihleri arasında, söz konusu laboratuvarlardan analiz hizmeti alan müşteriler tarafından toplam 85 adet anket formu doldurulmuştur. Ayrıca bu formlardan 16'sında görüş belirtilmiştir. Doldurulan anket formlarındaki yanıtlarının ortalamaları hesaplanmıştır. Hesaplama sonucunda, ortalaması  $4,83 \pm 0,07$  olarak bulunmuştur. Ayrıca memnuniyet yüzdesi %96,6 olarak tespit edilmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda ise anket sorularının yanıtlarının "1" veya "2" puanlı olduğunda veya "memnuniyetinizi artırmak için ne yapabiliriz, varsa önerileriniz" başlığındaki memnuniyetsizlik ifadeleri yer alan üç adet anket formu için düzeltici faaliyet başlatılmıştır.

**Sonuç:** TS EN ISO/IEC 17025 standardı kapsamında akredite olan su laboratuvarlarının yürüttüğü analiz hizmetlerine yönelik müşteri memnuniyetinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Tespit edilen uygunsuzluklar ise düzeltici faaliyetlerle kapatılmıştır. Ayrıca uygulanan "Müşteri Öneri ve Görüş Anketi Formu"nda yeni düzenlemeler yapılmasına karar verilmiştir. Bu standart kapsamında, laboratuvar hizmetlerinden müşterinin öneri ve görüşlerinin değerlendirileceği anketlerin kullanılmasının laboratuvarın hizmet sunma biçimine, süreçlerini gözden geçirmesine ve iyileştirmesine büyük bir katkı sağladığı görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** müşteri memnuniyeti, memnuniyet anketi, laboratuvar hizmetleri, kalite sistemleri, TS EN ISO/IEC 17025

Consumer Safety Laboratories and Biological Products, Public Health Agency of Turkey, it was wanted to fill out 10- question survey (1-to-5 scale with) and give suggestions by customers. We examined the results of the survey which was filled out. After the examination, we evaluated the average and standard deviation of the survey responses which had been calculated. We examined the results of the survey which was filled out. After the examination, we evaluated the average of the survey responses which had been calculated. We decided that if necessary the correction would have been made, and we took a corrective action for potential nonconformity, and/or a corrective action when survey response was "1" or "2" or customer stated his/her displeasure.

**Results:** In the period 01.01.2016 - 31.12.2016, 85 survey were filled out by customers which obtained on laboratory analysis service. Furthermore, 16 of these survey were given suggestions. We evaluated that it the average of the survey responses. In resulting of calculation, we found that the average was  $4.83 \pm 0.07$ . Also, we determined that the percentage of the satisfaction was 96.6%. After the evaluation, we decided that it was necessary to take corrective actions for three survey form when survey response was "1" or "2" or customer stated his/her displeasure.

**Conclusion:** We determined that the customers satisfactions which were obtained on analysis services of the water laboratories accredited within the scope of TS EN ISO/IEC 17025 was higher. The corrective actions for nonconformity, which we determined, were complemented. Also, we decided that "Opinion and Suggestion Survey", which was filled out, should be revised. We have understood that when survey was evaluated on customers' opinions and suggestions, the format of laboratory service, the review of processes and improvements were making a significant contribution.

**Key Words:** customer satisfaction, satisfaction survey, laboratory services, quality systems, TS EN ISO/IEC 17025



## GİRİŞ

Halk sağlığının korunması ve sürdürülebilmesi için laboratuvar tarafından gerçekleştirilen analiz hizmetlerinde güvenilir sonuçların elde edilmesi, kalifiyeli personel çalıştırılması ve iyi dokümanite edilmiş bir yönetim sisteminin uygulanması gerekmektedir. Bu hizmetlerin kalitesinin güvence altına alınması akreditasyon ile sağlanmaktadır (1). Akreditasyon, laboratuvarların ulusal ve uluslararası kabul görmüş teknik kriterlere göre değerlendirilmesi, yeterliliğinin onaylanması ve düzenli aralıklarla denetlenmesi olarak tanımlanmaktadır (2). Ülkemizde, akreditasyon süreci Türk Akreditasyon Kurumu (TÜRKAK) tarafından izlenmektedir. Su laboratuvarlarının akreditasyon standardı ISO 17025 standardı olup, ülkemizde Türk Standartları Enstitüsü (TSE) tarafından 12.04.2012 tarihinde TS EN ISO/IEC 17025 “Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği için Genel Şartlar” standardı olarak kabul edilmiştir (3). Laboratuvarların kalite yönetim sistemi kapsamındaki akreditasyonları için TS EN ISO/IEC 17025 standardının şartlarına yönelik çeşitli çalışmalar yapılmıştır (4-8). Yapılan bu çalışmalar ile laboratuvarların yürüttüğü hizmetlerinde ve yönetim sistemlerinde kontrollere ve iyileştirmelere olanak sağlamıştır (9-11). TSENISO/IEC 17025:2012 standardın 4.7.2. maddesi; laboratuvarın müşterilerinden hem olumlu hem de olumsuz geri bildirim almasını, bu bildirimlerin yönetim sistemini, deney ve kalibrasyon faaliyetlerini ve müşteri hizmetlerini iyileştirmek için analiz edilmesini ve kullanılmasını ifade etmektedir (3). Mikrobiyolojik ve kimyasal su laboratuvarları hizmetlerinden yararlanmak isteyen her türlü özel, tüzel ve resmi kurum veya kuruluş “müşteri” olarak tanımlanmıştır. Bu çalışma ile TS EN ISO/IEC 17025 standart kapsamında akredite olan laboratuvarların yürüttüğü faaliyetlerinin müşteri memnuniyeti yönünden değerlendirilmesi ve bu değerlendirme sonucunda yönetim sisteminin kontrolü ile laboratuvar hizmetlerinin iyileştirmeleri açısından öneminin ortaya konulması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, 01.01.2016 - 31.12.2016 tarihleri arasında, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Tüketici Güvenliği Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığının TS EN ISO/IEC 17025 standardı kapsamında akredite olan mikrobiyolojik ve kimyasal su analiz laboratuvarlarından analiz hizmeti alımı yapan müşterilerin memnuniyetlerini belirlemek amacıyla uygulanmıştır.

Müşteri memnuniyetinin belirlenmesindeki uygulamaları anlatan dokümanlar hazırlanmıştır. Bu dokümanlardan biri olan Müşteri Prosedürü içerisinde “Müşteri Öneri ve Görüş Anketi Formu” tanımlanmıştır. Tanımlanan bu formda, müşteriler tarafından hizmet alınan tarih, laboratuvarın adı, geliş nedenleri (deney/analiz, danışmanlık/bilgi edinme, eğitim staj ve diğer bölümleri) ve 10 adet anket sorusu yer almıştır. Mikrobiyolojik ve kimyasal su laboratuvarlarından analiz hizmeti alımı yapan müşterilerin bu formu doldurmaları; 1’den 5’e kadar puanlama yaparak da 10 adet anket sorusunu yanıtlamaları istenmiştir. Ayrıca memnuniyetlerini artırmak için ne yapılabileceği, varsa önerilerini yazmaları beklenmiştir. Öneri, görüşleri ve kimlik/iletişim bilgileri ile ilgili olarak gizlilik ilkesine uyulacağı taahhüt edilmiştir. Kalite yönetim sistemi kapsamında doldurulan formun “Görüş, Öneri, Anket, Şikâyet Kutusuna” atmaları sağlanmıştır. “Görüş, Öneri, Anket, Şikâyet Kutusu” her 15 günde bir Kalite Yönetim Birimi tarafından açılarak kayıt altına alınmış ve yanıtlar incelenmiştir. İnceleme sonucunda, anket sorularına verilen yanıtların ortalamaları ile standart sapması Excel programında hesaplanmış ve elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir. Anket formlarının değerlendirmeleri sonucunda; düzeltme yapılacak durumlar için düzeltme uygulanmasına, potansiyel uygunsuzluklarda düzeltici faaliyetler açılmasına ve/veya yanıtların “1” veya “2” puanlı olduğunda veya “memnuniyetinizi artırmak için ne yapabiliriz, varsa önerileriniz” başlığında,

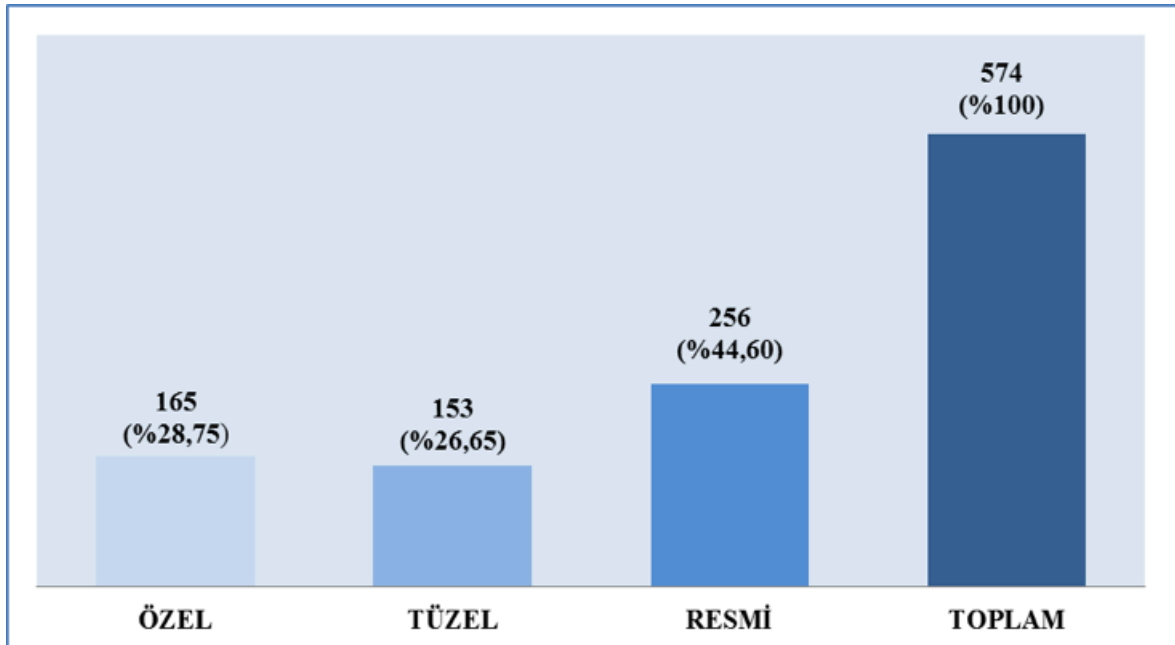
memnuniyetsizlik ifadeleri yer aldığı da uygunsuzluk olarak kabul edilmesine ve bu durumda düzeltici faaliyet başlatılmasına karar verilmiştir.

### BULGULAR

TS EN ISO/IEC 17025 standart kapsamında akredite olan mikrobiyolojik ve kimyasal su analiz laboratuvarlarından 01.01.2016 - 31.12.2016 tarihleri arasında analiz hizmeti alımı yapan 574 müşteriden 85'i anket formu doldurmuştur. Doldurulan toplam 85 adet anket formunun 16'sında görüş belirtilmiştir. Belirli bir amaçla kurulmuş olan ve gerçek kişilerin hak ve yükümlülüklerine sahip olan dernek, şirket, belediye, vakıf, TRT, üniversite, hastane gibi müşterileri tüzel, kamu müşterileri resmi ve bunların dışında kalanları ise özel müşteri olarak tanımlanmıştır.

Müşteri dağılımları Şekil 1'de ve müşteriler tarafından belirtilen görüşler Tablo 1'de verilmiştir.

Müşteri memnuniyetinin belirlenmesi amacıyla hazırlanan anket formundaki 10 adet sorunun yanıtlanması için 1'den 5'e kadar puanlara yapılmış ve yapılan bu puanlamaların ortalamaları hesaplanarak bir değerlendirme yapılmıştır. Bu anket sorularını yanıtlayan müşteriler M1'den M85'e kadar kodlar verilmiş ve müşterilerin verdikleri puanlamalara göre belirlenen ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 2'de, anket sayısı ve yanıtlama yüzdeleri ise Tablo 3'de sunulmuştur. Değerlendirme sonucunda ortalama  $4,83 \pm 0,07$  olarak bulunmuştur. Laboratuvarların yürüttükleri analiz hizmetlerindeki müşteri memnuniyet yüzdesi ise %96,6 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 1. Laboratuvar hizmetlerine yönelik müşteri memnuniyeti belirlemek için anket sorularını yanıtlayan müşterilerin dağılımları

Tablo 1. Laboratuvar hizmetlerine yönelik memnuniyeti arttırmak için müşteri önerileri

| MÜŞTERİ KOD NO* | MÜŞTERİ ÖNERİSİ   |
|-----------------|---|
| M1              | Yapılan iş ve işlemlerden memnunum  |
| M2              | Gerekli hassasiyetle hizmeti aldım  |
| M29             | Önerim yok. Hizmet kalitesi yeterlidir  |
| M35             | Teşekkürler   |
| M78             |   |
| M81             |   |
| M36             | Analiz sonuçları daha erken çıkabilir   |
| M38             | Mükemmel  |
| M42             | Yeterince memnunuz  |
| M46             | Ön bilgilendirme daha detaylı olabilir  |
| M52             | Sonuçların daha kısa bir süreye çekilebilmelerini arzu ediyorum               |
| M66             | Misafir otoparkı yapılması ve büyütülmesi                                     |
| M85             | Araçların numune teslim etmek için gelen araçlara yer/park yerinin sağlanması |
| M72             | Mail adresiyle öncelikli bilgilendirilebilir                                  |
| M76             | Hizmetleriniz mükemmel  |
| M77             | Numune Kabul Biriminde çalışan personelin davranışları doğru değildir         |

\*Anket form kağıtlarına verilen numaralandırma ile kodlama yapılmıştır.

Tablo 2. Laboratuvar hizmetlerine yönelik müşteri memnuniyetini belirlemek için yanıtlanan anket sorularına ait ortalama ve standart sapma sonuçları

| ANKET SORU NO | ANKET SORULARI   | ORTALAMA | STANDART SAPMA |
|---------------|--|----------|----------------|
| 1.            | Hizmetle ilgili yapılan ön bilgilendirme yeterlidir                          | 4,73     | 0,68           |
| 2.            | Hizmeti veren personelin tutum ve davranışı olumludur                        | 4,84     | 0,55           |
| 3.            | Hizmeti veren personel yeterli bilgiye sahiptir                              | 4,84     | 0,53           |
| 4.            | Hizmetin verildiği ortam ve alt yapı uygundur                                | 4,89     | 0,31           |
| 5.            | Hizmet taahhüt edilen sürede yerine getirilmiştir                            | 4,78     | 0,60           |
| 6.            | Numune alım ve kabul işlemlerinde uygulanan numune kabul kriterleri uygundur | 4,90     | 0,29           |
| 7.            | Deney/analiz raporları anlaşılır ve istenilen bilgileri içermektedir         | 4,87     | 0,34           |
| 8.            | Güvenilirlik ve müşteri gizliliğinin sağlanması yeterlidir                   | 4,87     | 0,34           |
| 9.            | Deney/analiz fiyatlandırma politikası uygundur                               | 4,71     | 0,84           |
| 10.           | Laboratuvarlarınızı başkalarına tavsiye ederim                               | 4,89     | 0,31           |

**Tablo 3.** Laboratuvar hizmetlerine yönelik müşteri memnuniyetini belirlemek için yapılan yanıtlamalara ait anket sayısı ve yüzdesi (%)

| Anket Soru No | Anket Sorusu   | Yanıtlamaya Ait Anket Sayısı ve Yüzdesi (%) |       |        |       |        |      |        |      |        |      |        |     |
|---------------|--|---|-------|--------|-------|--------|------|--------|------|--------|------|--------|-----|
|               |  | 5 Puan                                      |       | 4 Puan |       | 3 Puan |      | 2 Puan |      | 1 Puan |      | Toplam |     |
|               |  | n   | %     | n      | %     | n      | %    | n      | %    | n      | %    | n      | %   |
| 1.            | Hizmetle ilgili yapılan ön bilgilendirme yeterlidir                          | 69  | 81,17 | 12     | 14,12 | 2      | 2,35 | 1      | 1,18 | 1      | 1,18 | 85     | 100 |
| 2.            | Hizmeti veren personelin tutum ve davranışı olumludur                        | 75  | 88,23 | 8      | 9,41  | 1      | 1,18 | 1      | 1,18 | 0      | 0    | 85     | 100 |
| 3.            | Hizmeti veren personel yeterli bilgiye sahiptir                              | 74  | 87,06 | 10     | 11,76 | 0      | 0    | 0      | 0    | 1      | 1,18 | 85     | 100 |
| 4.            | Hizmetin verildiği ortam ve alt yapı uygundur                                | 76  | 89,41 | 9      | 10,59 | 0      | 0    | 0      | 0    | 0      | 0    | 85     | 100 |
| 5.            | Hizmet taahhüt edilen sürede yerine getirilmiştir                            | 71  | 83,53 | 11     | 12,94 | 2      | 2,35 | 0      | 0    | 1      | 1,18 | 85     | 100 |
| 6.            | Numune alım ve kabul işlemlerinde uygulanan numune kabul kriterleri uygundur | 76  | 90,48 | 8      | 9,52  | 0      | 0    | 0      | 0    | 0      | 0    | 84*    | 100 |
| 7.            | Deney/analiz raporları anlaşılır ve istenilen bilgileri içermektedir         | 73  | 86,90 | 11     | 13,10 | 0      | 0    | 0      | 0    | 0      | 0    | 84*    | 100 |
| 8.            | Güvenilirlik ve müşteri gizliliğinin sağlanması yeterlidir                   | 74  | 87,06 | 11     | 12,94 | 0      | 0    | 0      | 0    | 0      | 0    | 85     | 100 |
| 9.            | Deney/analiz fiyatlandırma politikası uygundur                               | 71  | 84,53 | 9      | 10,71 | 0      | 0    | 1      | 1,19 | 3      | 3,57 | 84*    | 100 |
| 10.           | Laboratuvarlarımızı başkalarına tavsiye ederim                               | 75  | 89,29 | 9      | 10,71 | 0      | 0    | 0      | 0    | 0      | 0    | 84*    | 100 |

n: Anket sayısı

\*: Bu soruda bir müşteri tarafından yanıtlanmamıştır.

10 adet anket sorusunun birinci sorusunda; “hizmetle ilgili yapılan ön bilgilendirme yeterlidir” önermesi için M46 kodlu müşteri “2 puan” verirken, M77 kodlu müşteri ise “1 puan” olarak yanıtlamıştır. Yanıtların incelenmesi sonucunda, düzeltici faaliyet açılmış ve sebep analizi yapılmıştır. Sebep analizi sonucunda ise müşterinin ön bilgilendirilmesine yönelik broşür hazırlanmış ve kullanılmakta olan “Deney/Analiz Talep Formunda” düzeltmeler yapılmıştır.

Anketin ikinci sorusunda yer alan “hizmeti veren personelin tutum ve davranışı olumludur” önermesine M77 kodlu müşteri “1 puan” vermiştir. Ayrıca “Numune Kabul Biriminde çalışan personelin davranışları doğru değildir” şeklinde görüş belirtmiştir.

Çalışmamızda kullanılan üçüncü anket sorusunda, “hizmeti veren personel yeterli bilgiye sahiptir” önermesine M77 kodlu müşteri “1 puan” vererek yanıtlamıştır. M77 kodlu müşterinin sırasıyla ikinci ve üçüncü soru için verdiği “1 puan” ile “Numune Kabul Birim personeline” yönelik görüşü nedeniyle düzeltici faaliyet açılmış ve sebep analizi yapılmıştır. Yapılan sebep analizi sonucunda, Numune Kabul Birim personelinin müşteri ile olumlu ilişki kurabilmesi konusunda bilgilendirme yapılmıştır.

Dördüncü anket sorusunda yer verilen “hizmetin verildiği ortam ve alt yapı uygundur” önermesine müşterilerin %89,41’i “5 puan” ve %10,59’u “4 puan” vermiştir. Yanıtların ortalaması ise  $4,89 \pm 0,31$  olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmanın beşinci sorusunda belirtilen “hizmet taahhüt edilen sürede yerine getirilmiştir” önermesine M77 kodlu müşteri “1 puan” olarak işaretlemiş ve hizmetin taahhüt edilen sürede yerine getirilmemesi nedeniyle düzeltici faaliyet başlatılmıştır. Düzeltici faaliyet kapsamında, hizmetin belirtilen sürede yerine getirilmemesinin sebebi analiz edilmiştir. Sebep analizi sonucunda; numune yoğunluğu ve cihaz arızalanma durumlarında analiz hizmetinin belirtilen süre içerisinde yerine

getirilemediği, bu durumlarda müşterilere bilgi verildiği ve bilgi verilirken “Görüşme Tutanak Formu” kullanılarak kayıt altına alındığı tespit edilmiştir. Anket sorularının altıncı sorusunda “numune alım ve kabul işlemlerinde uygulanan numune kabul kriterleri uygundur” ve yedinci anket sorusundaki “deney/analiz raporları anlaşılır ve istenilen bilgileri içermektedir” önermelerine M46 kodlu müşterinin yanıtlamadığı tespit edilmiştir. Altıncı ve yedinci sorulara sırasıyla yanıt veren müşterilerin %90,48’i ve %86,90’nın “5 puan” vermiş olduğu belirlenmiştir. “4 puan” vererek yanıtlayanların ise sırasıyla %9,52 ve %13,10 olduğu görülmüştür. Ayrıca yanıtların ortalamaları sırasıyla  $4,90 \pm 0,29$  ve  $4,87 \pm 0,34$  olarak bulunmuştur.

Çalışmamızın sekizinci sorusunda yer alan “güvenilirlik ve müşteri gizliliğinin sağlanması yeterlidir” önermesine “5 puan” ve “4 puan” veren müşterilerin sırasıyla %87,06 ve %12,94 olduğu tespit edilmiştir. Yanıtların ortalaması ise  $4,87 \pm 0,34$  olarak hesaplanmıştır.

Anket sorularından “deney/analiz fiyatlandırma politikası uygundur” önermesinin yer aldığı dokuzuncu soru için üç müşterinin (M16, M25, M43) “1 puan” ve M26 kodlu müşterinin “2 puan” verdiği belirlenmiştir. Laboratuvar analizlerinin fiyatlandırılması kurum politikası çerçevesinde değerlendirildiği için düzeltici faaliyet başlatılmamasına karar verilmiştir. Ancak her yıl düzenlenen analiz fiyat kitapçığının değerlendirme çalışmaları sırasında, bu konuda bilgilendirme yapılması gerektiği düşünülmüştür. Ayrıca dokuzuncu anket sorusunu yanıtlamayan müşterinin M54 kodlu olduğu görülmüştür.

Çalışmamızın onuncu ve son sorusunda yer alan “laboratuvarlarınızı başkalarına tavsiye ederim” önermesini M45 kodlu müşterinin yanıtlamamış olduğu belirlenmiştir. Bu soru için müşterilerin %89,29’unun “5 puan”, %10,71’inin “4 puan” vermiş olduğu tespit edilmiştir. Yanıtların ortalamasının ise  $4,89 \pm 0,31$  olduğu görülmüştür.

### TARTIŞMA

Sağlık alanında özellikle hastanede yürütülen hizmetlere yönelik müşteri memnuniyetinin belirlenmesi üzerine yapılan çalışmalar bulunmaktadır (12-16). Ancak sağlık alanında görev yapan mikrobiyolojik ve kimyasal su analiz laboratuvarlarının yürüttükleri analiz hizmetlerinde müşteri memnuniyetinin belirlenmesine yönelik çalışmalara rastlanılmamıştır. Bu çalışma, mikrobiyolojik ve kimyasal su analiz laboratuvarların analiz hizmetlerindeki müşteri memnuniyetini belirlemek için yapılmıştır.

01.01.2016 - 31.12.2016 tarihleri arasında analiz hizmeti alımı yapan müşterilerden 85'inin (%14,81) Müşteri Öneri ve Görüş Anket Formunu doldurduğu görülmüştür. Müşterilerin anket doldurmada isteksiz davrandıkları belirlenmiştir. Müşterilerin anket konusuna ilgi düzeyleri doldurma kararlarını muhtemelen etkilemektedir. Her müşteri tarafından anket formunun doldurulmasının sağlanması, Kalite Yönetim Birimi tarafından kalite hedefi olarak belirlenmiş ve bilgilendirme çalışmaları başlatılmıştır. Doldurulan toplam 85 adet anket formundan 16'sında öneri ve/veya görüş bildirilmiş ve dokuzunda olumlu görüş ifadeleri yer alırken yedisinde ise laboratuvar hizmetinde memnuniyetin artırılması için görüşler yazılmıştır (Tablo 1). M77 kodlu müşteri "Numune Kabul Biriminde çalışan personelin davranışları doğru değildir" şeklinde görüşü bildirmiş ve düzeltici faaliyet açılarak sebep analizi yapılmıştır. Yapılan sebep analizi sonucunda, Numune Kabul Birim personelinin müşteri ile olumlu ilişki kurabilmesi konusunda bilgilendirme çalışması yapılmıştır. Diğer görüşler doğrultusunda ise laboratuvar hizmetlerinde iyileştirmeler gerçekleştirilmiştir. Emhan ve ark. tarafından (17) üniversite hastanesine başvuran hastaların memnuniyet düzeylerinin belirlenmesi üzerine yaptıkları çalışmada, yatarak ve ayakta tedavi gören hasta grupların memnuniyet değişkenleri açısından farklılıklar gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

Çalışmamız sonucunda, müşterilerin yanıtlarının ortalaması  $4,83 \pm 0,07$  olarak bulunmuştur.

Laboratuvarların yürüttükleri analiz hizmetlerinden müşterilerin memnuniyet yüzdesi ise %96,6 olarak tespit edilmiştir. Önsüz ve ark. (18) tarafından İstanbul'da bir tıp fakültesi hastanesinde yatan hastaların memnuniyet düzeylerinin belirlenmesi üzerine yaptıkları çalışmaya katılanların %64,5'i hastaneden genel olarak memnun olduğunu belirtmiştir. Kore'de yapılan bir çalışmada ise laboratuvar hizmetleri ile genel memnuniyetin %48 olduğu bulunmuştur (19). Amerika Birleşik Devletleri'ndeki bir hastanenin anatomik patoloji laboratuvarından hizmet alımı yapan müşterilere anket uygulanmış ve sonucunda iyi iletişim sağlanmadığı için memnuniyetin düşük olduğu bulunmuştur (20).

Çalışmamızda, "hizmetle ilgili yapılan ön bilgilendirme yeterlidir", "hizmeti veren personelin tutum ve davranışı olumludur", "hizmeti veren personel yeterli bilgiye sahiptir" ve "hizmet taahhüt edilen sürede yerine getirilmiştir" sorularına "1" veya "2" puanlı yanıtlama yapılması uygunsuzluk olarak kabul edilmiş ve düzeltici faaliyet başlatılmıştır. Bu uygunsuzluklar için sebep analizi yapılmış ve giderilmesi için faaliyetlerde bulunulmuştur. Özcan ve ark. (21) yaptıkları çalışmada; hastaların ilk başvuru, kayıt işlemleri sırasında personelden, danışmadaki bilgilendirmeden, muayene için ayrılan süreden, doktorun kendisini bilgilendirmesinden, doktorun saygı ve nezaketinden, hemşire ve sağlık personelinin çok memnun ya da memnun kaldıklarını tespit etmişlerdir. İlhan ve Toygar (22) tarafından yapılan çalışmada ise üniversite hastanesinin ayakta tedavi gören hasta ve yakınlarının tetkikler için bekleme süresini orta ve iyi olarak tanımladıklarını bulmuşlardır.

Çin'deki bir üniversite hastanesinin tıp laboratuvarındaki üç yıllık müşteri memnuniyetinin belirlenmesi için anketler uygulanmış ve uygulama sonucunda ilk yılın en çok memnuniyetsizlik konusu "test sonuçlanma süresi" (3,77 puan) olarak belirlenmiştir. Bu memnuniyetsizlik için düzeltici faaliyetler ile üçüncü yılında azalma görülmüş ve bu

faaliyetlerin müşteri memnuniyeti açısından etkili olduğu belirlenmiştir (23). Finlandiya’da yapılan bir çalışmada, sağlık merkezleri ile üniversite hastanesinin laboratuvarı arasında yapılan test talebinde ve sonucunun raporlanmasında kullanılan elektronik veri aktarımından memnuniyetsizlik (%71) olduğu tespit edilmiştir. Bu memnuniyetsizliğin ileri yıllarda da devam ettiği görülmüş ve giderilmesi için düzeltici faaliyetler yürütülmüştür (24).

Li ve ark. tarafından (25), Çin’deki bulaşıcı hastalıklarla ilgili üç farklı hastanenin çalışanları ile hastalarının memnuniyetlerinin değerlendirilmesi amacıyla anket çalışması yapılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda, klinisyenlerin hastaneleriyle ilgili memnuniyetsizliklerini hastalardan daha çok ifade ettikleri belirlenmiştir. Ayrıca hastane çalışanları ile hastaların memnuniyetlerini belirlemek için kullanılacak anketlerin yöntemlerinin ve değerlendirme kriterlerinin iyileştirmesiyle sağlık hizmet ortamının düzeltilmesine ve memnuniyetlerin artmasına katkı sağlayacağı bildirilmiştir.

Çalışmamızda, “deney/analiz fiyatlandırma politikası uygundur” önermesi için dört müşteri tarafından “1” veya “2” puanlı yanıtlama yapılmış ancak düzeltici faaliyet başlatılmamıştır. Düzeltici faaliyet başlatılmaması nedeni fiyatlandırmanın kurum politikasına göre yapılmış olmasıdır.

Çalışmamızın “hizmetin verildiği ortam ve alt yapı uygundur”, “numune alım ve kabul işlemlerinde uygulanan numune kabul kriterleri uygundur” ve “deney/analiz raporları anlaşılır ve istenilen bilgileri içermektedir” sorularının sırasıyla yanıtlarının

ortalaması  $4,89\pm 0,31$ ,  $4,90\pm 0,29$  ve  $4,87\pm 0,34$  olarak belirlenmiştir. Manisa Merkezefendi Devlet Hastanesinin yataklı servislerindeki hastaların memnuniyetlerinin belirlenmesi üzerine yapılan çalışmada (26), hastaların hizmet aldıkları birimlerin yapılarının yeterli hale getirildiği konusunda %34’ü tamamen katılırken, %2,8’i hiç katılmadıklarını belirtmişlerdir.

Çalışmamızda, “laboratuvarlarınızı başkalarına tavsiye ederim” ifadesini içeren soru için müşterilerin %89,29’u “5 puan” vermiştir. Taşlıyan ve Gök (27) tarafından Kahramanmaraş’taki kamu ve özel hastanelerde hasta memnuniyeti üzerine yaptıkları çalışmada, tüm katılımcıların hizmet aldıkları hastaneyi tavsiye edeceklerini belirtmişlerdir. Akpınar Oruç ve Üzel Taş (28) tarafından yapılan çalışmada da acil servise başvuran hastaların %84,4’ünün tavsiye edeceklerini bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, TS EN ISO/IEC 17025 standardı kapsamında akredite olan mikrobiyolojik ve kimyasal su analiz laboratuvarlarının analiz hizmetlerindeki müşteri memnuniyetlerinin belirlenmesi için müşterinin öneri ve görüşlerinin değerlendirileceği anketlerin kullanılmasının önemi görülmektedir. Bu değerlendirmeler sonucunda, laboratuvarın hizmet sunma biçimini kontrol etmesine, süreçlerini gözden geçirmesine ve iyileştirmesine büyük bir katkı sağlayacaktır. Çalışmamız sonucunda, laboratuvarların yürüttüğü analiz hizmetlerinin müşteri memnuniyeti yönünden değerlendirilmesinin önemi ortaya çıkmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Yeşilören G, Karataş S. Gıda analiz laboratuvarları için akreditasyon süreci ve gerekliliği. Dünya Gıda Derg, <http://www.dunyagida.com.tr/haber/gida-analiz-laboratuvarlari-icin-akreditasyon-sureci-ve-gerekliligi/5001>, (Erişim Tarihi: 15.09.2017).
2. Anonymous. Uygunluk Değerlendirme Kuruluşlarının Akreditasyonu Hakkında Yönetmelik. Ankara: Türk Akreditasyon Kurumu, 2012.
3. Anonymous. TS EN ISO/IEC 17025 Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği İçin Genel Şartlar. Ankara: Türk Standartları Enstitüsü, 2012.
4. Bakır F, Laleli Y. TS EN ISO/IEC 17025 kapsamında akreditasyona teknik hazırlık. Türk Biyokimya Derg, 2006; 31 (2): 96-101.

5. Yamamoto S, Asakura H, Machii K, Igimi S. Approval of ISO/IEC 17025 and quality control of laboratory testing. *Kokuritsu Iyakuhin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku*, 2010; 128: 78-80.
6. Özkök S, Koluman A, Burkan ZT, Çalım HD, Tezel A, Akçelik EN. Gıda mikrobiyolojisinde kullanılan yöntemlerin laboratuvar akreditasyonu. *Uludag Univ J Fac Vet Med*, 2011; 30 (2): 33-7.
7. Baycar A, Tekiner İH, Özpinar H. Gıda kontrol laboratuvarlarında ISO/IEC 17025 standardı ve akreditasyonun önemi. *Gıda Teknoloji Derg*, 2014; 9 (1): 6-20.
8. Bozkurt EN, Bayram G, Gültop F, Topcu U, Gevrek N. TS EN ISO/IEC 17025 standardı kapsamında laboratuvarlarda yapılan denetimlerdeki bulguların değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2017; 74 (1): 83-94.
9. Kanitvittaya S, Suksai U, Suksripanich O, Pobkeeree V. Laboratory quality improvement in Thailand's northernmost provinces. *Int J Health Care Qual Assur*, 2010; 23 (1): 22-34.
10. Ratseou E, Ramphal RR. The impact of laboratory quality assurance standards on laboratory operational performance. *AJHTL*, 2014; 3 (2): 1-13.
11. Güler SA, Güllüoğlu BM. Meme sağlığı hizmetlerinin kalite güvencesi ve kurum akreditasyonu gerekliliği. *J Breast Health*, 2014; 10: 129-33.
12. Aytar G, Yeşildal N. Yatan hasta memnuniyeti. *Düzce Tıp Fak Derg*, 2004; 3: 10-4.
13. Şahin TK, Bakıcı H, Bilban S, Dinçer Ş, Yurtçu M, Günel E. Meram Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Servisinde yatan hasta yakınlarının memnuniyetinin araştırılması. *Genel Tıp Derg*, 2005; 15 (4): 137-42.
14. Oja PI, Kouri TT, Pakarinen AJ. From customer satisfaction survey to corrective actions in laboratory services in a university hospital. *Int J Qual Health Care*, 2006; 18 (6): 422-8.
15. Aslan Ş, Sezgin M, Haşiloğlu SB. Özel sağlık kuruluşlarında müşteri memnuniyeti ve memnuniyeti oluşturan unsurların araştırılması. *Muğla Üni Sosyal Bil Enst Derg*, 2008; 20: 24-40.
16. Apay SE, Arslan S. Bir üniversite hastanesinde yatan hastaların tatmin olma düzeyleri. *TAF Prev Med Bull*, 2009; 8 (3): 239-44.
17. Emhan A, Bez Y, Dülek Ö. Bir üniversite hastanesine başvuran hastaların memnuniyet düzeyleri. *Dicle Tıp Derg*, 2010; 37 (3): 241-7.
18. Önsüz MF, Topuzoğlu A, Cöbek UC, Ertürk S, Yılmaz F, Birol S. İstanbul'da bir tıp fakültesi hastanesinde yatan hastaların memnuniyet düzeyi. *Marmara Medical J*, 2008; 21 (1): 33-49.
19. Koh YR, Kim SY, Kim IS, Chang CL, Lee EY, Son HC, et al. Customer satisfaction survey with clinical laboratory and phlebotomy services at a tertiary care unit level. *Ann Lab Med*, 2014; 34: 380-5.
20. Zarbo RJ. Determining customer satisfaction in anatomic pathology. *Arch Pathol Lab Med*, 2006; 130 (5): 645-9.
21. Özcan M, Özkaynak V, Toktaş İ. Silvan Devlet Hastanesine başvuran kişilerin memnuniyet düzeyleri. *Dicle Tıp Derg*, 2008; 35 (2): 96-101.
22. İlhan MN, Toygar ŞA. Bir üniversite hastanesinde ayaktan tedavi gören hasta ve yakınlarının memnuniyet durumlarının değerlendirilmesi. *USAYSAD*, 2017; 3 (1): 116-34.
23. Guo S, Duan Y, Liu X, Jiang Y. Three-year customer satisfaction survey in laboratory medicine in a Chinese university hospital. *Clin Chem Lab Med*, 2017; pii: /j/cclm.ahead-of-print/cclm-2017-0787/cclm-2017-0787.xml. doi: 10.1515/cclm-2017-0787.
24. Oja P, Kouri T, Pakarinen A. Health centres' view of the services provided by a university hospital laboratory: use of satisfaction surveys. *Scand J Prim Health Care*, 2010; 28 (1): 24-8.
25. Li M, Huang C, Lu X, Chen S, Zhao P, Lu H. Evaluation of medical staff and patient satisfaction of Chinese hospitals and measures for improvement. *Biosci Trends*, 2015; 9 (3): 182-9.
26. Akbaş E. Sağlık Hizmetlerinde Hasta Memnuniyeti ve Hasta Memnuniyetini Etkileyen Faktörler (Manisa Merkezefendi Devlet Hastanesi Örneği). Yüksek Lisans Tezi, Beykent Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, 2014.
27. Taşlıyan M, Gök S. Kamu ve özel hastanelerde hasta memnuniyeti: Kahramanmaraş'ta bir alan çalışması. *KSÜ İİBF Derg*, 2012; 2 (1): 69-94.
28. Akpınar Oruç O, Üzel Taş H. Acil servise başvuran hastaların memnuniyet düzeyleri. *Kocatepe Tıp Derg*, 2014; 15 (2): 131-6.



## Adana ilindeki bazı çiftçilerin genetiği değiştirilmiş tohumlar hakkındaki bilgi düzeyleri ve tutumları

### Knowledge and attitudes of some farmers about genetically modified seeds in Adana province

Özcan AYGÜN<sup>1</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Genetiği Değiştirilmiş (GD) ürünler son yıllarda hem dünyada, hem de Türkiye’de çeşitli tartışmaları ve uyuşmazlıkları içinde barındıran bir konudur. Günümüzde GD ürünlerin üretimi ve kullanımı yıldan yıla artış göstermekte ve bu ürünlerle ilgili tartışmalar da hâlâ devam etmektedir. Bu çalışma, Adana İli İmamoğlu ilçesi ve Osmaniye İli Koçyurdu Köyünde bulunan çiftçilerin GD tohumlar hakkındaki bilgileri ve bilgilerine göre tutumlarını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

**Yöntem:** Kesitsel tipteki çalışmaya, Adana İmamoğlu İlçesinden 423, Osmaniye Koçyurdu köyünden 297 kişi örneklem olarak seçilmiştir. Çalışmaya başlamadan önce etik kurul onayı ve çalışmaya katılan kişilerden sözel onam alınmıştır. Çalışmadaki veriler 20 sorudan oluşan anket formu ile toplanmıştır. Çalışmada, tanımlayıcı tablolarda sayı ve yüzde değerleri, çeşitli değişkenlere göre çiftçilerin tutumlarını ölçmek için ise ki-kare testi kullanılmıştır. Çalışmanın istatistiksel anlamlılık düzeyi  $p<0,05$  olarak kabul edilmiştir.

**Bulgular:** Katılımcıların %58,9’unun tohumların

#### ABSTRACT

**Objective:** Genetically Modified (GM) products have been subject to a variety of controversies and conflicts in recent years both in the world and in Turkey. Today, the production and use of GM crops is increasing year by year and the discussions about these products are still going on. This study was conducted to determine the attitudes of the farmers in the Imamoğlu in Adana province and village of Koçyurdu Osmaniye province according to the information and information about the genetically modified seeds.

**Methods:** The sample was selected as 423 samples from Adana Imamoğlu district and 297 samples from Osmaniye Koçyurdu village of the cross-sectional type. The ethics committee was approved before the investigation and verbal approval was given to those who participated in the research. In the study, the data were collected by a questionnaire consisting of 20 questions. Number and percentage values were used in descriptive tables in the research and chi-square test was used to measure the attitudes of the farmers according to various variables. The level of statistical significance of the study was accepted as  $p<0.05$ .

<sup>1</sup>Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fethiye Sağlık Bilimleri Fakültesi, Halk Sağlığı Hemşireliği Anabilim Dalı, Muğla



İletişim / Corresponding Author : Özcan AYGÜN

Muğla Sıtkı Koçman Üni., Fethiye Sağ. Bil. Fak., Çalca Mevkii, Fethiye, Muğla - Türkiye  
Tel : +90 505 778 45 65 E-posta / E-mail : ozcanaygun@mu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 03.08.2017  
Kabul Tarihi / Accepted : 16.02.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.02223

Aygün Ö. Adana ilindeki bazı çiftçilerin genetiği değiştirilmiş tohumlar hakkındaki bilgi düzeyleri ve tutumları.  
Turk Hij Den Biyol Derg, 2018; 75(2): 153-168

genetik yapısının değişmesine onay verdiği, %48,9'unun kontrolsüz kullanımının zararlı olduğunu söylediği, %42,5'inin tarım ilaçları yerine yeni teknoloji kullanımına onay verdiği, %46,7'sinin sağlığa zararlı olduğunu düşündüğü, %24,2'sinin GD ürün riski olan ekmeği tüketmede, %47,5'inin GD ürün riski olan domatesi tüketmede sakınca görmediği, %48,3'ünün GD ürünlerden rahatsızlık duyduğu ve %34,7'sinin GD ürünlerde etiket olmasını istediği belirlenmiştir. Katılımcıların cinsiyetlerine göre GD ürünlerle ilgili tutum ve uygulamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamamıştır ( $p>0,05$ ). Ancak, yaş ve eğitim düzeyleri ile çiftçilerin GD ürünlerle ilgili tutum ve uygulamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

**Sonuç:** Çalışma sonucunda, katılımcıların GD ürünlerin tarımda kullanımı, tüketilmesi ve olası zararları/riskleri ile ilgili tutumlarında da olumsuz bakış açılarının olmadığı saptanmıştır. Çalışmada, 26 yaş ve üzerindeki, eğitim düzeyi lise ve üzeri olan katılımcıların çoğunun GD ürünlere olumsuz baktığı tespit edilmiştir. Sonuçlar ışığında, özellikle eğitim düzeyi düşük ve genç yaştaki çiftçilerin GD ürünler ve etkileri konularında farkındalıklarının artırılması için bilgilendirme yapılmalıdır. Ayrıca, bu çiftçilerin toprağa ekeceği ürünleri seçmeleri sürecinde danışmanlık yapacak bir sistemin oluşturulması önerilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** biyoteknoloji, genetiği değiştirilmiş gıda, gıda, tarım

**Results:** 58.9% of the participants approved the change of the genetic structure of the seeds, 48.9% said that the uncontrolled use was harmful, 42.5% approved the use of new technology instead of agricultural drugs, 46.7% thought harmful to health, 24.2%. It was determined that 47.5% of the farmers did not mind consuming tomatoes with a risk of GM products, 48.3% were uncomfortable with GM crops, and 34.7% wanted to label them with GM products, while consuming the crop GM products risk. There was no statistically significant difference between the attitudes and practices of the GM products according to the gender of the participants ( $p>0.05$ ). However, it was determined that there was a statistically significant difference between age and education levels and attitudes and practices of farmers with GM products ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** As a result of the study, it was determined that there was no negative view on the attitudes of the participants regarding the use, consumption and possible damage of these products with GM crops in agriculture. In the study, it was determined that most of the participants aged 26 years and above, those with education level high school and above, had negative views on GM crops. In the light of the results, it should be informed in order to raise awareness of GM crops and their effects on young farmers, especially in the low education level. It is also recommended that these farmers establish a system to advise on the selection process of their crops to the land.

**Key Words:** biotechnology, genetically modified food, food, agriculture

## GİRİŞ

Genetiği Değiştirilmiş (GD) ürünler, son yıllarda olumlu veya olumsuz yönleriyle hem dünyada hem de Türkiye'de çeşitli tartışmaları ve uyuşmazlıklar içinde barındıran bir konu haline gelmiştir. GD ürün terimi, biyoteknolojik yöntemler kullanılarak doğal yöntemlerle sonuca ulaşılması mümkün olmayan,

yeni ve farklı süreçlerle farklı nitelikler ve özellikler kazandırılan ürünler için kullanılmaktadır. GD ürünler, 1990'lı yıllarda dünya ticaretine giriş yapmış ve günümüzde de hala önemini korumaktadır (1). Bu ürünler, özellikle 1996 yılında dünya ticaretine girdikten sonra üzerindeki tartışmalar ve çalışmalar

artmaya başlamıştır (1, 2). Bu tartışmaların odağında en önemli konu GD ürünlerin insan sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin olmasıdır. Sağlık risklerine ek olarak çevre sağlığına da olumsuz etkileri, bu ürünlerde etiket olup-olmaması, tüketicilerin yetersiz bilgi ve tutumları, dini-kültürel-etik değerler açısından güvenilir ve sağlıklı gıda kavramına ters düşen konular da tartışmalar sürmektedir (2). Ayrıca, GD ürünlerin üretimi ve kullanımı yıldan yıla artış gösterdiği için, yaşamımızın her alanında karşımıza çıkabilecek önemli bir tartışma konusu olarak gündemimizde yer tutmaktadır (3).

GD ürünler tarım, tıp, sanayi ve kimya gibi birçok alanda kullanılmaktadır. GD ürünlerin gen teknolojisi ile ilaçların etken maddeler ile, hastaların tanı ve tedavisinde kullanılacak aşı üretilmesi, gıdaların besin değerlerinin artırılması veya değiştirilmesi, sağlık açısından yararları olarak belirtilmektedir. Ayrıca, böceklerle ve diğer zararlılara karşı dayanıklılık, bitkinin olumsuz çevre şartlarına uyum sağlaması, bitkisel ve hayvansal ürün veriminin artırılması, istenilen özellikte sebze ve meyve üretimi, gıdaların raf ömürlerinin uzatılması da tarımsal uygulamalar açısından; pestisit kullanımının azaltılması ise çevre açısından olası yararları olarak ortaya konmaktadır (4-8). Öte yandan, GD ürünlerin oluşturduğu alerji, toksik etki, antibiyotik direncinin oluşmasına katkı yapması, gıdaların besin değerlerindeki değişimlerin riskleri, sağlık açısından zararları olarak belirtilmektedir. Bitki hasadından oluşan tohumların tekrardan kullanılmaması (terminatör gen kullanımı), biyolojik çeşitliliğin yok olma riski, bitki zararlılarında dayanıklılığın artması, genlerin ekosisteme geçişi ise tarımsal alanlar ve çevre açısından olası riskler olarak ifade edilmektedir (2, 6, 8, 9-12). Ayrıca tohum yönünden dışa bağımlılık ve pahalı tohumlar, küçük çiftçilerin zarar görmesi, patent sorunu da GD ürünlerin ekonomik boyutundaki olumsuzluklar olarak karşımıza çıkmaktadır (2-4).

Bütün bu risklerine rağmen, GD ürünler ve biyoteknoloji daha fazla miktarda ve iyi kalitede ürün

olmak, yetiştirilen ürünlerin çeşitli hastalıklara ve zararlılara, istenmeyen otlara karşı kullanılan ilaçlara karşı dayanıklılığını artırmak, ürünlerin olgunlaşma ve hasat zamanını hızlandırmak, ürün içeriğindeki besin öğelerinin zenginleştirmek, ürünlerin raf ve stoklama ömrünü artırmak amacıyla en çok tarım sektöründe kullanılmaktadır. Tarımda kullanılan biyoteknoloji uygulamaları ile çevre dostu ürünlerin artacağı, tarım ilacı kullanımının azalacağı, yüksek verim ve ekonomik kazanç sağlama gibi beklentiler, GD ürünlerin kullanılmasını yaygınlaştırmıştır (1, 2, 12).

Türkiye’de yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, GD ürünler önemli bir yer kaplamaktadır (13, 14). Genetiği değiştirilen veya içeriği zenginleştirilen ürünler pazara sunulmakta ve bu ürünlerin sayısı ve miktarları her geçen gün artış göstermektedir. Bu durum karşısında kamuoyunda tartışmalar ve bu ürünlerdeki bilinmezlik hala devam etmektedir. Bu alanda yapılan çalışma sayısı çok fazla olmasına karşın, GD ürünlerin; toplum sağlığına, çevreye ve üretime yarar ve zararları hakkında kanıta dayalı bulgular sunulamamıştır. Bu durumun nedeni, GD ürün teknolojisinin henüz yeni olması ve gelecekte çevreye ve canlılara nasıl etki edeceğinin bilinmemesinden kaynaklanmaktadır (15-17).

Günümüzde, özellikle hayvansal kaynaklı genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO) konusunda Amerika, Asya ve Avrupa tüketicileri temkinlidir. Avrupa toplumları diğerlerine göre bu konuda daha mesafelidir. Bu gıdalarla ilgili etik ve manevi kaygılar daha ön plandadır (12). Bir çalışmada, GD gıdalarla ilgili bilgileri olan tüketicilerin zarar algılarının fayda algılarından daha yüksek olduğu ortaya konmuştur (18). Bazı çalışmalarda da, GD yemler ile beslenen hayvanlardan elde edilen gıdaların tüketimine yönelik kaygılardan bahsedilmektedir (16, 17).

GD ürünlerle ilgili kaygı ve tartışmaların çeşitliliği sağlık, ziraat, ekonomi, çevre, sivil toplum kuruluşları gibi alanlarda yoğunlaşmış olmasına rağmen, tartışmaların neredeyse tamamında halk sağlığı bakış

açısı ve toplum sağlığı riskleri öne çıkmaktadır. Halk sağlığı bakış açısı, toplum sağlığı yararını gözeten, birey ve toplumun sağlığını diğer kaygılardan ayırıp öne çıkaran, kamu ve özel sektörün de öncelik verdiği yaklaşım ve kavramlarından meydana gelmektedir. Toplum sağlığını ilgilendiren her konuda öncelikle halk sağlığı bakış açısıyla bakılması, gıda güvenliği ve tüketicinin sağlığını etkileyecek her türlü uygulamalardan kaçınılması bir zorunluluktur ve önem arz etmektedir (10).

Bu nedenle, gıda açığına ve açlığa çözüm olarak sunulan bu teknolojilerin üretim ve ekonomik kaygılardan daha ziyade toplum ve çevre sağlığı açısından değerlendirilmesi gerekmektedir. Özellikle bu tür teknolojiler kullanılarak üretilen ve tüketime sunulan ürünlerle ilgili çeşitli süreçler üzerinde durulmalıdır. Bu ürünler, tüketicilerin kullanımına sunulmadan önce alerjik ve toksik etkileri açısından incelenmeli, bu durumu sürdüreceği gerekli düzenleme ve bunun için gerekli çerçeve oluşturulmalıdır. GD ürünlerin etiketlenmesi yasal olarak sağlanmalı, tüketime sunulan ürünlerde GD ürün kullandığı bilgisi yer almalıdır. Toplumdaki biyogüvenlikle ilgili endişeleri azaltmak için hem kamu hem de özel kurum ve kuruluşlar topluma her aşamasında bilgilendirme yapmalıdır (18-20). Bu çalışma da, Adana İlinin İmamoğlu İlçesi ve Osmaniye İli Koçyurdu Köyünde bulunan çiftçilerin GD. tohumlar hakkındaki bilgileri ve bilgilerine göre tutumlarını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Araştırmanın evreni ve örneklem seçimi

Adana İlinin İmamoğlu İlçesi ve Osmaniye İli Koçyurdu Köyünde kesitsel tipte yapılan bu çalışmanın evrenini Adana İmamoğlu İlçesinden 28.686 ve Osmaniye Koçyurdu Köyünden 805 çiftçi oluşturmaktadır. Araştırmada örneklem seçimi belirlenirken  $n = (N \cdot t^2 \cdot p \cdot q) / (d^2 \cdot (N-1) + (t^2 \cdot p \cdot q))$  formülünden yararlanılmış (n= örnekleme alınacak kişi sayısı, N= evrendeki kişi sayısı, t=  $\alpha$  anlamlılık

düzeyinde, serbestlik derecesine göre t tablosu kritik değeri, p= ilgilenilen olayın görülme oranı, q= ilgilenilen olayın görülmemeye olasılığı, d= kabul edilen örneklem hata oranı) ve evrenden tabakalama yapılarak örneklem seçimi yapılmıştır (21). Adana İmamoğlu İlçesinden 385, Osmaniye Koçyurdu köyünden 270 kişinin örneklem olarak seçilmiştir. Ancak, örneklemedeki tüm bireylere ulaşılamayacağı dikkate alınarak çalışmaya alınan kişi sayısı %10 arttırılmış; İmamoğlu'ndan 423 ve Koçyurdu köyünden 297 olmak üzere toplam 720 kişinin örneklem olarak alınması kararlaştırılmıştır.

Çalışmanın bağımlı değişkeni, çiftçilerin GD tohumlar hakkındaki bilgi düzeyi ve tutumlarıdır. Çalışmanın bağımsız değişkenleri ise yaş, eğitim durumu, toprak miktarı, gazete okuma sıklığıdır. Çalışmaya başlamadan önce Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Etik Kurulundan Etik Kurul Onayı alınmıştır. Çalışmaya katılan kişilere ise cevapların gizli tutulacağı söylenip sözel onam alınmıştır.

### Verilerin toplanması

Çalışmadaki veriler 20 sorudan oluşan veri toplama formu ile toplanmıştır. Veri toplama formunda yer alan ilk 12 soru sosyo-demografik özellikleri sorgulamak amacı ile kalan sekiz soru çiftçilerin GD tohumlar hakkındaki bilgi düzeyi ve tutumlarını değerlendirmek amacı ile oluşturulmuştur. Katılımcıların bilgi ve tutumlarını ölçen evet/hayır yanıtları olan bu formun (22) güvenilirliğini ölçmek amacıyla ön uygulama yapılmış, örneklem dışından seçilmiş 30 kişiye uygulanan anketin güvenilirlik katsayısı orta düzeyde güvenli bulunmuştur (Cronbach  $\alpha=0,696$ ).

Veriler, anketörler aracılığıyla toplanmıştır. Anket formu Ocak-Aralık 2015 tarihleri arasında Adana İli İmamoğlu İlçesi ve Osmaniye İli Koçyurdu Köyünde bulunan 720 çiftçiye uygulanmıştır. Uygulama sırasında çiftçilerin anket formu hakkında soru sormalarına izin verilmiş ve gerekli açıklama yapılmıştır.

### Verilerin analizi

Çalışmanın veri tabanı, SPSS 20,0 programında oluşturulmuş ve veriler kodlanarak analizleri yapılmıştır. Çalışmada tanımlayıcı tablolarda sayı ve yüzde değerleri, çeşitli değişkenlere göre çiftçilerin tutumlarını ölçmek için ise ki-kare testi kullanılmıştır. Çalışmanın istatistiksel anlamlılık düzeyi  $p<0,05$  olarak kabul edilmiştir. Ki-kare testi sonucunda, her bir kolonda gözlenen değerler, beşten küçük ise kolon birleştirilerek yeniden analiz yapılmıştır.

### BULGULAR

Katılımcıların sosyo-demografik ve tanıtıcı özelliklerine göre dağılımları Tablo 1 'de sunulmuştur. Çalışmaya katılanların %60,6'sının erkek, %56,6'sının 40 yaş üstü, %60,6'sının evli, %79,5'inin eğitim düzeyinin ilkokul ve okur-yazar olduğu görülmüştür. Ayrıca katılımcıların yaşadıkları yerler incelendiğinde, %82,2'sinin kasaba veya köyde yaşadığı veya yaşamının çoğunun orada geçtiği, %82,8'inin sahip olduğu toprak miktarının beş hektar ve daha fazla olduğu ve %85,8'inin günlük gazete okumadıkları saptanmıştır (Tablo 1).

Katılımcıların %58,9'unun tohumların genetik yapısının değişmesine onay verdiği, %48,9'unun kontrolsüz kullanımının zararlı olduğunu belirttiği, %42,5'inin tarım ilaçları yerine yeni teknoloji kullanımına onay verdiği, %46,7'sinin sağlığa zararlı olduğunu düşündüğü, %24,2'sinin GD ekmeği tüketmede, %47,5'sinin GD olan domatesi tüketmede sakınca görmediği, %48,3'ünün GD ürünlerden rahatsızlık duyduğu ve %34,7'sinin GD ürünlerde etiket olmasını istediği Tablo 2'de gösterilmiştir.

### Cinsiyet

Katılımcıların cinsiyetlerine göre GDO ilgili tutum ve uygulamaları karşılaştırılması sonucunda, istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ) (Tablo 3).

### Yaş

Katılımcıların yaş gruplarına göre GDO'larla ilgili tutum ve uygulamaları karşılaştırılmıştır. Katılımcıların GD tohumların kontrolsüz kullanılmasının zararlı olduğunu belirtme ( $p<0,001$ ), tarım ilaçları yerine yeni teknoloji kullanımına onay verme ( $p<0,001$ ), GD tohumların insan sağlığına zararlı olduğunu belirtme ( $p=0,003$ ) ve GD ürünlerden rahatsız olma ( $p<0,001$ ) durumları ile yaş grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (Tablo 4). Yapılan çoklu karşılaştırmalar sonucunda, 18-25 yaş grubunun çoğunluğunun diğer yaş gruplarına göre kontrolsüz GD tohumları kullanmasına olumlu bakarken; 56 yaş ve üzerinde olanların diğer yaş gruplarına göre kontrolsüz GD tohumların kullanmasına olumsuz bakması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 26-40 yaş grubu (%69,7) ve 56 yaş grubu üzerinde olanların (%61,1) diğer yaş gruplarına göre tarım ilaçları yerine yeni teknoloji kullanımına karşı olması istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p<0,05$ ). 18-25 yaş grubu katılımcıların %36,6'sının GD tohumların kullanımının insan sağlığına zararlı olduğunu düşünmediği ve bu ürünlerden rahatsızlık duymadığı tespit edilmiştir. 56 yaş ve üzerinde olan katılımcıların %58,7'sinin GD ürünlerin sağlığa zararlı olduğunu belirtmesi ve bu ürünlerden rahatsız olması da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

### Eğitim durumu

Katılımcıların eğitim düzeylerine göre GDO'larla ilgili tutum ve uygulamaları karşılaştırılmıştır. Tohumların genetiğinin değiştirilmesine onay verme ( $p=0,026$ ), GD tohumların kontrolsüz kullanılmasının zararlı olduğunu belirtme ( $p<0,001$ ) ve tarım ilaçları yerine yeni teknoloji kullanımına onay verme ( $p<0,001$ ) ile katılımcıların eğitim düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı görülmüştür (Tablo 5). Ayrıca GD ürünlerin insan sağlığına zararlı olduğunu belirtme ( $p<0,001$ ), GD domatesi tüketmeye sıcak bakma, GD ürünlerden rahatsız olma ( $p<0,001$ ) ve GD içeren ürünlerin üzerinde açıklayıcı etiket

Tablo 1. Katılımcıların sosyo-demografik ve tanıtıcı özelliklerine göre dağılımı

| Değişkenler          | Kategoriler       | n   | %     |
|----------------------|-------------------|-----|-------|
| Cinsiyet             | Kadın             | 284 | 39,4  |
|                      | Erkek             | 436 | 60,6  |
| Yaş grupları         | 18-25             | 142 | 19,7  |
|                      | 26-40             | 178 | 24,7  |
|                      | 41-55             | 256 | 35,6  |
|                      | 56 ve üstü        | 144 | 20,0  |
| Eğitim durumu        | Okur-yazar        | 292 | 40,6  |
|                      | İlkokul           | 280 | 38,9  |
|                      | Ortaokul          | 68  | 9,4   |
| Medeni durum         | Lise ve üstü      | 80  | 11,1  |
|                      | Evli              | 436 | 60,6  |
|                      | Bekar             | 284 | 39,4  |
| Yaşanılan yer        | Köy               | 352 | 48,9  |
|                      | Kasaba            | 240 | 33,3  |
|                      | Kent              | 128 | 17,8  |
| Toprak miktarı       | 1 hektardan az    | 336 | 46,7  |
|                      | 1-5 hektar arası  | 260 | 36,1  |
|                      | 5 hektardan fazla | 124 | 17,2  |
|                      | Günlük            | 102 | 14,2  |
| Gazete okuma sıklığı | Bazen             | 214 | 29,7  |
|                      | Hafta sonları     | 104 | 14,4  |
|                      | Eline geçtikçe    | 300 | 41,7  |
|                      | Toplam            | 720 | 100,0 |

Tablo 2. Katılımcıların GD ürünler hakkındaki tutumlarının dağılımı

| Değişken  | Kategori | Sayı | %     |
|---|----------|------|-------|
| Tohumların genetik yapısının değişmesine onay verme         | Evet     | 424  | 58,9  |
|   | Hayır    | 296  | 41,1  |
| Kontrolsüz kullanımının zararlı olduğunu söyleme            | Evet     | 352  | 48,9  |
|   | Hayır    | 368  | 51,1  |
| Tarım ilaçları yerine yeni teknoloji kullanımına onay verme | Evet     | 306  | 42,5  |
|   | Hayır    | 414  | 57,5  |
| İnsan sağlığını zararlı olduğunu düşünme                    | Evet     | 336  | 46,7  |
|   | Hayır    | 384  | 53,3  |
| GD ürün riski olan ekmeği tüketme                           | Evet     | 174  | 24,2  |
|   | Hayır    | 546  | 75,8  |
| GD ürün riski olan domatesi tüketme                         | Evet     | 342  | 47,5  |
|   | Hayır    | 378  | 52,5  |
| GD ürünlerden rahatsızlık duyma                             | Evet     | 348  | 48,3  |
|   | Hayır    | 372  | 51,7  |
| GD ürünlerde etiket olmasını isteme                         | Evet     | 250  | 34,7  |
|   | Hayır    | 470  | 65,3  |
| Toplam  |          | 720  | 100,0 |

olmasını onaylama ( $p<0,001$ ) ile katılımcıların eğitim düzeyleri arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı görülmüştür (Tablo 5).

Yapılan çoklu karşılaştırmalar sonucunda, eğitim düzeyi okur-yazar olanların çoğunluğunun ilkökul, ortaokul, lise ve üstü eğitim düzeylerine göre tohumların genetik yapısının değişmesine ve

kontrolsüz GD tohumların kullanmasına olumlu bakması; eğitimi lise ve üstü düzeyde olanların ise okur-yazar, ilkökul, ortaokul mezunlarına göre GD tohumlara karşı olması ve kontrolsüz GD tohumların kullanmasına olumsuz bakması istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p<0,05$ ).

Tablo 3. Katılımcıların GD ürünler hakkındaki tutumlarının cinsiyetlerine göre karşılaştırılması

| Değişken  | Cinsiyet | Evet<br>% | Hayır<br>% | X <sup>2</sup> | p     |
|---|----------|-----------|------------|----------------|-------|
| Tohumların genetik yapısının değişmesine onay verme           | Kadın    | 56,3      | 43,7       | 1,26           | 0,148 |
|   | Erkek    | 60,6      | 39,4       |                |       |
| GD ürünlerin kontrolsüz kullanımının zararlı olduğunu söyleme | Kadın    | 47,2      | 52,8       | 0,54           | 0,254 |
|   | Erkek    | 50,0      | 50,0       |                |       |
| Tarım ilaçları yerine yeni teknoloji kullanımına onay verme   | Kadın    | 42,3      | 57,7       | 0,01           | 0,488 |
|   | Erkek    | 42,7      | 57,3       |                |       |
| GD ürünlerin insan sağlığını zararlı olduğunu düşünme         | Kadın    | 48,6      | 51,4       | 0,69           | 0,224 |
|   | Erkek    | 45,4      | 54,6       |                |       |
| GD ürün riski olan ekmeği tüketme                             | Kadın    | 26,8      | 73,2       | 1,72           | 0,111 |
|   | Erkek    | 22,5      | 77,5       |                |       |
| GD ürün riski olan domatesi tüketme                           | Kadın    | 46,5      | 53,5       | 0,19           | 0,357 |
|   | Erkek    | 48,2      | 51,8       |                |       |
| GD ürünlerden rahatsızlık duyma                               | Kadın    | 47,2      | 52,8       | 0,24           | 0,337 |
|   | Erkek    | 49,1      | 50,9       |                |       |
| GD ürünlerde etiket olmasını isteme                           | Kadın    | 38,0      | 62,0       | 2,26           | 0,077 |
|   | Erkek    | 32,6      | 67,4       |                |       |

GD= Genetiği Değiştirilmiş, n= Sayı,  $\chi^2$  = ki kare testi



Tablo 4. Katılımcıların GD ürünler hakkındaki tutumlarının yaş gruplarına göre karşılaştırılması

| Değişken  | Yaş Grubu  | Evet % | Hayır % | X <sup>2</sup> | p        |
|---|------------|--------|---------|----------------|----------|
| Tohumların genetik yapısının değişmesine onay verme           | 18-25      | 59,2   | 40,8    | 2,58           | 0,460    |
|   | 26-40      | 56,2   | 43,8    |                |          |
|   | 41-55      | 62,5   | 37,5    |                |          |
|   | 56 ve üstü | 55,6   | 44,4    |                |          |
| GD ürünlerin kontrolsüz kullanımının zararlı olduğunu söyleme | 18-25      | 36,6   | 63,4    | 24,47          | <0,001** |
|   | 26-40      | 48,3   | 51,7    |                |          |
|   | 41-55      | 46,9   | 53,1    |                |          |
|   | 56 ve üstü | 65,3   | 34,7    |                |          |
| Tarım ilaçları yerine yeni teknoloji kullanımına onay verme   | 18-25      | 50,7   | 49,3    | 19,14          | <0,001** |
|   | 26-40      | 30,3   | 69,7    |                |          |
|   | 41-55      | 48,4   | 51,6    |                |          |
|   | 56 ve üstü | 38,9   | 61,1    |                |          |
| GD ürünlerin insan sağlığını zararlı olduğunu düşünme         | 18-25      | 36,6   | 63,4    | 13,85          | 0,003**  |
|   | 26-40      | 44,9   | 55,1    |                |          |
|   | 41-55      | 46,9   | 53,1    |                |          |
|   | 56 ve üstü | 58,3   | 41,7    |                |          |
| GD ürün riski olan ekmeği tüketme                             | 18-25      | 21,1   | 78,9    | 5,64           | 0,130    |
|   | 26-40      | 19,1   | 80,9    |                |          |
|   | 41-55      | 27,3   | 72,7    |                |          |
|   | 56 ve üstü | 27,8   | 72,2    |                |          |
| GD ürün riski olan domatesi tüketme                           | 18-25      | 49,3   | 50,7    | 2,89           | 0,408    |
|   | 26-40      | 44,9   | 55,1    |                |          |
|   | 41-55      | 50,8   | 49,2    |                |          |
|   | 56 ve üstü | 43,1   | 56,9    |                |          |
| GD ürünlerden rahatsızlık duyma                               | 18-25      | 35,2   | 64,8    | 21,41          | <0,001** |
|   | 26-40      | 48,3   | 51,7    |                |          |
|   | 41-55      | 47,7   | 52,3    |                |          |
|   | 56 ve üstü | 62,5   | 37,5    |                |          |
| GD ürünlerde etiket olmasını isteme                           | 18-25      | 31,0   | 69,0    | 2,79           | 0,424    |
|   | 26-40      | 34,8   | 65,2    |                |          |
|   | 41-55      | 38,3   | 61,7    |                |          |
|   | 56 ve üstü | 31,9   | 68,1    |                |          |

GD= Genetiği Değiştirilmiş, n= Sayı, x<sup>2</sup> = ki kare testi, \*\*p < 0,01 istatistiksel anlamlılık düzeyi, \* p < 0,05 istatistiksel anlamlılık düzeyi

Tablo 5. Katılımcıların GD ürünler hakkındaki tutumlarının eğitim düzeylerine göre karşılaştırılması

| Değişken  | Eğitim Düzeyi | Evet % | Hayır % | X <sup>2</sup> | p        |
|---|---------------|--------|---------|----------------|----------|
| Tohumların genetik yapısının değişmesine onay verme           | Okur-yazar    | 63,7   | 36,3    | 9,28           | 0,026*   |
|   | İlkokul       | 57,9   | 42,1    |                |          |
|   | Ortaokul      | 58,8   | 41,2    |                |          |
|   | Lise ve üstü  | 45,0   | 55,0    |                |          |
| GD ürünlerin kontrolsüz kullanımının zararlı olduğunu söyleme | Okur-yazar    | 34,2   | 65,8    | 92,32          | <0,001** |
|   | İlkokul       | 47,1   | 52,9    |                |          |
|   | Ortaokul      | 70,6   | 29,4    |                |          |
|   | Lise ve üstü  | 90,0   | 10,0    |                |          |
| Tarım ilaçları yerine yeni teknoloji kullanımına onay verme   | Okur-yazar    | 56,2   | 43,8    | 59,28          | <0,001** |
|   | İlkokul       | 40,7   | 59,3    |                |          |
|   | Ortaokul      | 26,5   | 73,5    |                |          |
|   | Lise ve üstü  | 12,5   | 87,5    |                |          |
| GD ürünlerin insan sağlığını zararlı olduğunu düşünme         | Okur-yazar    | 32,9   | 67,1    | 75,77          | <0,001** |
|   | İlkokul       | 46,4   | 53,6    |                |          |
|   | Ortaokul      | 61,8   | 38,2    |                |          |
|   | Lise ve üstü  | 85,0   | 15,0    |                |          |
| GD ürün riski olan ekmeği tüketme                             | Okur-yazar    | 24,7   | 75,3    | 0,99           | 0,802    |
|   | İlkokul       | 24,3   | 75,7    |                |          |
|   | Ortaokul      | 26,5   | 73,5    |                |          |
|   | Lise ve üstü  | 20,0   | 80,0    |                |          |
| GD ürün riski olan domatesi tüketme                           | Okur-yazar    | 62,3   | 37,7    | 60,41          | <0,001** |
|   | İlkokul       | 43,6   | 56,4    |                |          |
|   | Ortaokul      | 35,3   | 64,7    |                |          |
|   | Lise ve üstü  | 17,5   | 82,5    |                |          |
| GD ürünlerden rahatsızlık duyma                               | Okur-yazar    | 34,2   | 65,8    | 79,67          | <0,001** |
|   | İlkokul       | 47,9   | 52,1    |                |          |
|   | Ortaokul      | 64,7   | 35,3    |                |          |
|   | Lise ve üstü  | 87,5   | 12,5    |                |          |
| GD ürünlerde etiket olmasını isteme                           | Okur-yazar    | 45,2   | 54,8    | 31,27          | <0,001** |
|   | İlkokul       | 31,4   | 68,6    |                |          |
|   | Ortaokul      | 26,5   | 73,5    |                |          |
|   | Lise ve üstü  | 15,0   | 85,0    |                |          |

GD= Genetiği Değiştirilmiş, n= Sayı, X<sup>2</sup> = ki kare testi, \*\*p < 0,01 istatistiksel anlamlılık düzeyi, \* p < 0,05 istatistiksel anlamlılık düzeyi

Ayrıca, okur-yazar eğitim düzeyinde olanların %65,8'inin ilkokul, ortaokul, lise ve üstü eğitim düzeylerine göre tarım ilaçlarının yerine GD tohumların kullanılması gerektiğini ve GD ürünlerin sağlığa zararını önemsenmediği belirlenmiştir. Ortaokul (%73,5) ve üstü (%87,5) eğitim düzeyinde olanların okur-yazar, ilkokul eğitim düzeylerine göre tarım ilaçları yerine yeni teknolojilerin kullanımına karşı olması ve ayrıca GD tohumların insan sağlığına zararlı olduğunu düşünmeleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Okur-yazar grubunun %62,3'ünün ilkokul (%43,6), ortaokul (%35,3), lise ve üstü (%17,5) eğitim düzeylerine göre GD domatesi tüketmeye olumsuz bakmadıkları ve GD ürünlerden rahatsızlık duymadıkları belirlenmiştir (%65,8). Ortaokul ve üzeri eğitim düzeyindeki katılımcıların aksine okur-yazar ve ilkokul eğitim düzeyindeki katılımcılara göre domatesi tüketmeye karşı olmaları (sırasıyla, %64,7; %82,5) ve GD ürünlerden rahatsızlık duymaları (sırasıyla, %64,7; %87,5) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Okur-yazar eğitim düzeyindekilerin %45,2'sinin ilkokul, ortaokul, lise ve üstü eğitim düzeylerine göre GD ürünlerin üzerinde açıklayıcı etiket olmasını istemesine karşın, eğitimi lise ve üstü düzeyde olanların (%85,0) okur-yazar, ilkokul ve ortaokul eğitim düzeylerine göre GD ürünlerde etikete gerek olmadığını belirtmesi de istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p<0,05$ ).

## TARTIŞMA

GDO'larla ilgili üreticilerin tutumlarını araştırmak amacıyla yapılan bu çalışma sonucunda; katılımcıların %58,9'unun GD tohumların genetik yapısının değişmesine olumlu baktığı, %48,9'unun ise GD tohumların kontrolsüz kullanımının zararlı olduğunu ifade ettiği görülmüştür. Katılımcıların %42,5'i tarım ilaçları yerine yeni teknoloji kullanımına olumlu bakmakta ve %46,7'si GD ürünlerin insan sağlığına zararlı olduğunu düşünmektedir. Çalışmaya katılanların %75,8'inin GD ürün riski olan ekmeği tüketmeye karşı olduğu görülürken, sadece %52,5'i

GD ürün riski olan domatesi tüketmede sakınca görmemektedir. Ayrıca, katılımcıların %51,7'si GD ürünlerden rahatsızlık duymadığı ve %65,3'ü satışa sunulan GD ürünlerde etiket olmasını önemsemediği belirlenmiştir. Ayrıca evli, 40 yaş ve üzeri olan, eğitim düzeyi lise ve üzeri katılımcıların GD ürünlere olumsuz baktığı bu çalışmada ortaya konmuştur.

Ülkemizde GD ürünlerle ilgili halkın düşüncelerini ölçmek amacıyla yapılan çeşitli çalışmalarda, toplumun bu ürünlere olumsuz yaklaştığı görülmektedir. Bu çalışmalarda, GD ürünlerin satışını yaparken mutlaka etiketlerinde belirtilmesi gerektiğini bildirenlerin oranları oldukça yüksek düzeydedir. Ayrıca, GD ürünlerin tüketimi ile ilgili olumsuz algı ve tutumların yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir (23-25). Yapılan bazı çalışmalarda da, geleceğin sağlık çalışanlarını oluşturacak olan tıp fakültesi ve sağlık bilimleri fakültesi öğrencileri (26-32) ile çeşitli bölümlerde öğrenim gören üniversite öğrencilerinin (33-35) GD gıdalara yönelik risk algıları yüksek, fakat bilgi düzeyleri düşük oldukları bulunmuştur. Öğrencilerin çoğunun GD ürünleri kullanmak istemediği, nerdeyse tamamı etiketlenmesi gerektiğini, üçte ikisinin bu ürünleri satın almak istemediğini belirtmiştir (26-35). Çeşitli meslek grupları ve sağlık kuruluşuna başvuran bireylerle yapılan çalışmalar incelendiğinde, katılımcılar GD ürünlerin etkilerinin tehlikeli olduğunu, genetik uygulamaları etik bulmadıklarını, fiyatı daha ucuz olsa bile tüketmeyeceklerini bildirmişlerdir. Ayrıca tüketime sunulan ürünlerin etiketlenmesi gerektiğinin önemi vurgulanmıştır (36-38). Yapılan bir çalışmada, GD ürün içeren gıdaların sağlığa zararlı olduğunu (%88,7), GD ürün içeren gıdalar devlet denetiminde olursa bireylerin bu gıdaları tüketebileceğini (%53,4) ve GD ürün içeren gıdalar etiketlenerek satılırsa tüketici sağlığının korunabileceği (%68,5) belirtmiştir (39). Başka bir çalışmada, tüketicilerin GD ürünlere yönelik olumlu veya olumsuz tutumlarının onların GD ürünleri satın alma davranışlarının üzerinde etkili olduğu ortaya konmuştur. Çalışmada, ülkemizde GD ürünlere yönelik olumsuz tutumların yüksek düzeyde

olması, GD ürünlerin satın alınmasının zorlaştırdığı tespit edilmiştir (39).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde, toplumun GD ürünler ile ilgili bilgilerinin yetersiz olmasına karşın, bu ürünlere karşı tutumlarının olumsuz olduğu görülmüştür (26-39). Bu çalışmada, ise çiftçilerin GD tohumların kullanılması ile ilgili tutumları daha olumlu olduğu belirlenmiştir. Ancak, bu tohumların kontrolsüz kullanımı konusunda ve GD ürün içeren ekmeği tüketmede bir olumsuz yaklaşım içinde oldukları da görülmüştür. Bu çalışma sonucunda, GD ürünlerle ilgili yapılan diğer çalışmalara göre olumlu bir yaklaşım bulunurken; GD ürünlerin kontrol dışı kullanımı ve ülkemizde günlük tüketimin çok yaygın olan ekmeğin tüketimine yönelik olumsuz bir bakış ve tutumun oluşunun nedenini ise katılımcıların GD ürünlerle ilgili algıladıkları bireysel tehlikeden kaynaklı olabileceğini düşündürmüştür. Çalışmamız sonucunda; GD ürünlerin insan sağlığına zararsız olduğu ve bu ürünlerde etiket olmasının önemsemediği gibi bir yaklaşımda bulunmaları, yapılan diğer çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu olmadığı görülmüştür. Ülkemizde toplumun çeşitli kesimleriyle yapılan çalışmalar sonucunda, GD ürünlerle ilgili bilgi yetersizliğinin yüksek düzeyde olduğu ve bu ürünleri kullanmaya olumsuz bir yaklaşımın bulunduğu belirlenmiş olmasına rağmen çalışmamız sonucunda üreticilerin olumlu yaklaşımı düşündürücüdür. Özellikle üretim yapan çiftçilerin, toplumun çeşitli grupların aksine GD ürünlere yönelik olumlu yaklaşımlarının ekonomik kazançları ile ilgili olduğu düşündürmüştür.

Çalışmamızda, cinsiyet ile katılımcıların GD ürünlerle ilgili tutumları arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ancak yapılan bazı çalışmalarda, erkeklerin kadınlara göre GD ürünlerden daha fazla oranda haberdar oldukları, ancak GD ürünler ile ilgili bilgi ve tutumları açısından cinsiyetin etkili bir faktör olmadığı ortaya konmuştur (25). Bir çalışmada da erkeklerin kadınlara göre bilgi ve tutumlarının daha ileri düzeyde olduğu belirtilmiştir (40). Başka bir çalışmada ise kadınların erkeklere göre GD ürünleri zararlı bulma oranlarının daha yüksek olduğu, ancak

GD ürünlere karşı olumsuz tutumları arasında herhangi bir farklılık olmadığı öne sürülmüştür (41). Yapılan çalışma sonuçlarına benzer olarak çalışmamızda, cinsiyet ile GD ürünlere karşı tutum açısından herhangi bir farklılık saptanmamıştır. Ancak, diğer çalışmalara göre çalışmamıza katılanların GD ürünlere daha olumlu baktıkları belirlenmiştir. Bu tutumda, sadece cinsiyetin etkisi bulunmamaktadır. Sonuç olarak, hem kadınların hem de erkeklerin tutumlarının çalışmanın bulgularıyla paralel olduğu söylenebilir.

Çalışmamızda, genç yaş grubu üreticilerin GD tohumların kullanmasına olumlu baktığı ve sağlık üzerine etkilerini göz ardı ettiği ve bundan rahatsızlık duymadığı, buna karşın yaşlı ve orta yaşlı olan üreticilerin ise GD tohumların kullanmasına karşı olduğu, bu teknolojinin zararlı olduğunu düşündükleri ve sağlığı olumsuz etkileyebileceklerini düşündükleri görülmektedir. Bazı çalışmalarda, genç tüketicilerin GD ürünler hakkında daha fazla bilgi sahibi olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, halkın GD ürünlere ilişkin fayda ve risk algılarının, bu ürünlerin üretilme süreçlerine ilişkin etik inançlarının yaşa bağlı olarak değiştiği ortaya konmuştur. Bu çalışmalarda, özellikle 35 yaş ve üzerindeki bireylerin GD ürünlere ilişkin fayda algıları daha yüksek iken, 34 yaş ve daha küçük bireylerin GD ürünlere ve üretilme süreçlerine ilişkin risk algılarının daha yüksek, GD ürünlere ve üretilme süreçlerine ilişkin etik inançlarının daha güçlü olduğu bulunmuştur (23, 34). Yapılan bazı çalışmalarda da, yaşlıların gençlere göre GD ürünler konusunda daha doğru algı ve tutumlarının olduğu belirtilmiştir. Bir lisede yapılan çalışmada bile, öğrencilerin yaşları arttıkça GD ürünler hakkında bilgi düzeylerinin ve bu ürünlere karşı olumsuz tutumlarının da arttığı saptanmıştır (25, 34, 39). Çalışmamızda ise yaşı daha büyük olanların (26 yaş ve üzeri) GD ürünlere karşı olumsuz yaklaşım içinde olduğu görülmüştür.

Eğitim düzeyi düşük olan katılımcıların çoğunluğunun tohumların genetik yapısının değişmesine ve kontrolsüz GD tohumların kullanmasına olumlu; eğitimi lise ve üstü düzeyde olanların GD tohumlara karşı olduğu ve kontrolsüz GD tohumların

kullanmasına olumsuz yaklaştığı saptanmıştır. Eğitim düzeyi düşük olanların GD ürünleri tüketmede sakınca görmediği ve sağlık risklerini önemsemediği, ancak özellikle lise ve üzeri eğitim düzeyindekilerin de tam aksine sağlık endişesinin ve bu ürünlerin zararlarına yönelik olumsuz tutumların olduğu görülmüştür. Ülkemizde de GD ürünlerle ilgili halkın düşüncelerini ölçmek amacıyla yapılan bir çalışmada, tüketicilerin GD ürünler hakkında bilgili olma oranının eğitim düzeyi arttıkça yükseldiği tespit edilmiştir. (23). Yapılan başka bir çalışmada, tüketicilerin GD ürünler konusunda yeterli bilgiye sahip olmadıkları, bu gıdalara şüpheli yaklaştıkları, eğitim düzeyi arttıkça farkındalıklarının arttığı, ancak ürünlere karşı temkinli yaklaşımın değişmediği belirlenmiştir (41). Yapılan bazı çalışmalarda ise, yüksek eğitimlilerin düşük eğitimlilere göre GD ürünlerle ilgili daha doğru bilgi ve tutumların olduğu ortaya konmuştur (25, 39). Yapılan çalışmalara benzer olarak çalışmamızda da eğitim düzeyinin yüksek olması, GD ürünlerle ilgili farkındalık ve tutumların olumlu yönde değiştiği söylenebilir.

## SONUÇ

Çalışmamız sonucunda, katılımcıların GD ürünlerin tarımda kullanımı ve tüketilmesi ile ilgili olumsuz tutum içerisinde olmadığı belirlenmiştir. Katılımcıların bu ürünlerin sağlığa etkileri ve çeşitli zararları ile ilgili tutumlarında da olumsuz bakış açılarının olmadığı saptanmıştır. Çalışmada, cinsiyetin tüketicilerin GD ürünlerle ilgili tutumlarını etkileyen bir faktör olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca evli, 26 yaş ve üzerindeki, eğitim düzeyi lise ve üzeri olan katılımcılar, GD ürünlere olumsuz bakmaktadır. Bu sonuçlar ışığında, özellikle eğitim düzeyi düşük, bekar ve genç yaşta tarımda çalışan ve üreten grup olan çiftçilerin GD ürünler ve etkileri konularında farkındalıklarının artırılması için bilgilendirme yapılması gerekmektedir. Ayrıca, bu çiftçilerin toprağına ekeceği ürünleri seçim sürecinde danışmanlık yapacak bir sistemin oluşturulması önerilmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya katılan çiftçilere ve anketi uygulayan anketörlere teşekkür ederim.

## KAYNAKLAR

1. Aslan D, Şengelen M. Farklı boyutlarıyla genetiği değiştirilmiş organizmalar. 1. Baskı, Ankara: Ankara Tabip Odası Yayınları. 2010; 1-118.
2. Bawa AS, Anilakumar KR. Genetically modified foods: safety, risks and public concerns—a review. *J Food Sci Tech*, 2013; 50(6): 1035-1046. doi: 10.1007/s13197-012-0899-1.
3. Korkut D, Soysal A. Genetiği değiştirilmiş organizmalar. Elektronik Kitap, Ankara: HASUDER. 2013; 1-39.
4. Çelik V, Balık DT. Genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO). Erciyes Üniv. Fen Bil. Enst. Derg., 2007; 23(1-2):13-23.
5. Arun ÖÖ, Muratoğlu K, Eker FY. Genetiği değiştirilmiş organizmalar kavramına genel bakış. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg*, 2015; 41 (1): 113-23. doi: 10.16988/iuvfd.2015.03790.
6. Meseri R. Beslenme ve genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO). *TAF Prev. Med. Bull.*, 2008; 7(5): 455-60.
7. Haspolat I. Genetiği değiştirilmiş organizmalar ve biyogüvenlik. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.*, 2012; 59:75-80.
8. Kaynar P. Genetik olarak değiştirilmiş organizmalar (GDO)'a genel bir bakış. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2009; 66 (4): 177-85.
9. Ergin I, Karababa AO. Genetiği değiştirilmiş organizmalar: sağlığa zararlarını kanıtlamak neden zor? Sorunlar ve riskin ipuçları. *Türkiye Halk Sağ. Derg*, 2011; 9(2):113-22.
10. Aslan D. Halk sağlığı bakış açısı ve genetiği değiştirilmiş organizmalar, *Hacettepe Tıp Derg*, 2011; 42:110-14.
11. Kurt PÖ, Aydoğan Çiftçi E, Yağdı K. Genetik kullanımı sınırlayıcı teknolojilerin olası etkileri. *UÜ Ziraat Fak Derg*, 2011;25(2):69-76.
12. Frewer LJ, van der Lans IA, Fischer ARH, Reinders MJ, Menozzi D, Zhang X. Public perceptions of agri-food applications of genetic modification—a systematic review and meta-analysis. *Trends Food Sci Tech*, 2013; 30(2): 142-52.
13. Pamuk Ş. Genetiği değiştirilmiş gıdalara genel bir yaklaşım. *Kocatepe Vet Derg*, 2010;3(2): 91-100.
14. Kulaç İ, Ağırıldil Y, Yakın M. Sofralarımızdaki tatlı dert, genetiği değiştirilmiş organizmalar ve halk sağlığına etkileri. *Türk Biyokimya Derg*, 2006; 31 (3) ; 151-5.
15. Zhang M, Liu GL. The effects of consumer's subjective and objective knowledge on perceptions and attitude towards genetically modified foods: objective knowledge as a determinant. *Int J Food Sci Tech*, 2015; 50(5): 1198-05. doi:10.1111/ijfs.12753.
16. Zhu X, Xie X. Effects of knowledge on attitude formation and change toward genetically modified foods. *Risk Anal.*, 2015; 35(5): 790-810. doi: 10.1111/risa.12319.
17. Tufarelli V, Selvaggi M, Dario C, Laudadio V. Genetically modified feeds in poultry diet: safety, performance, and product quality. *Crit Rev Food Sci*, 2015; 55(4): 562-9. doi: 10.1080/10408398.2012.667017.
18. Atsan T, Kaya T. Genetiği değiştirilmiş organizmaların (GDO) tarım ve insan sağlığı üzerine etkileri. *UÜ Ziraat Fak Derg*, 2008; 22(2): 1-6.
19. Ergin SÖ, Yaman H. Genetiği değiştirilmiş gıdalar ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Gümüşhane Üniv Sağ Bil Derg*, 2013;2(2):261-74.
20. Şen S, Altınkaynak S. Genetiği değiştirilmiş gıdalar ve potansiyel sağlık riskleri. *Sakarya Üniv Fen Bil Derg*, 2014; 18 (1): 31-38.

21. Özdamar K. Modern Bilimsel Araştırma Yöntemleri. Eskişehir: Kaan Kitabevi. 2003.
22. Erbaş H. Türkiye’de Biyoteknoloji ve Toplumsal Kesimler. Birinci baskı, Ankara: Ankara Üniv Biyotek Enst Yayınları, No:4. 2008.
23. Oraman Y, Yılmaz E, İnan İH. Tüketicilerin genetiği değiştirilmiş gıdalara ilişkin düşünceleri ve sağlık hakkındaki endişeleri: Tekirdağ ili örneği, Türkiye IX. Tarım Ekonomisi Kongresi, Eylül 1-2, Şanlıurfa-Türkiye, 2010.
24. Haspolat Kaya I, Konar N, Poyrazoglu ES, Artık N. Genetik modifikasyon ve Türk tüketiciler-kentli tüketicilerin genetik modifiye organizma ve gıdalara yönelik farkındalıkları. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 2014; 60, 213-20.
25. Tuna M, Özdemir O. Türk toplumunun genetiği değiştirilmiş organizmaların (GDO) kullanımına ilişkin eğilimleri. 6. Ulusal Sosyoloji Kongresi Bildiri Kitabı, Ekim 1-3, Aydın-Türkiye, 2009.
26. Koçak N, Türker T, Kılıç S, Hasde M. Tıp fakültesi öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş organizmalar hakkındaki bilgi, tutum ve davranışlarının belirlenmesi. Gülhane Tıp Derg, 2010; 52: 198-204.
27. Ergin A, Uzun SU, Bozkurt Aİ. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş organizmalarla ilgili bilgi ve görüşleri. Pamukkale Tıp Derg, 2015;8(2):92-98.
28. Adana F, Gezer N, Ögüt S. Sağlık Yüksekokulu öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş organizmalara ilişkin bilgi ve görüşleri. ACU Sağlık Bil Derg, 2014; 5(4):276-280.
29. Türker T, Koçak N, Yıldırım N, Türk YZ, Kılıç S. Determination of knowledge, attitude, behavior about genetically modified organisms in nursing school students. Gulhane Med J, 2013; 55(4): 297-304. doi:10.5455/gulhane.33326.
30. Palancı Y, Toksöz P, Kiliçbulut Z, Kayaalp Z. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş organizmalı (GDO) ürünler hakkında bilgi düzeyleri ve yaklaşımları.16. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi. Ekim 28-31, Antalya-Türkiye, 2013, 462.
31. Tokuç B, Aktaş E, Yamık G, Yiğit M. Sağlık Bilimleri Fakültesi öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş organizmalar konusunda bilgi ve tutumları. 16. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi. Ekim 28-31, Antalya-Türkiye, 2013, 464.
32. Durukan E, Erdal R, Aykut NB, Mıhçıokur S, Akın A. Tıp Fakültesi öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş organizmalı ürünlerle ilgili bilgi düzeyi. 15. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi. Ekim 2-6, Bursa-Türkiye, 2012, 747.
33. Yılmaz B, Üner AK, Ercan A. Üniversite öğrencilerinin biyoteknoloji ve genetiği değiştirilmiş gıdalar ile ilgili tutumları. Akademik Gast Derg, 2015: 14(2): 64-71.
34. Kaya E, Gürbüz H, Derman M. Üniversite öğrencilerinin genetiği değiştirilmiş gıda ürünlerine bakışı. Iğdır Üniv Fen Bil Enst Derg, 2012; 2(3): 55-60.
35. Özdemir O, Duran M. Biyoteknolojik uygulamalara ve genetiği değiştirilmiş organizmalara (GDO) ilişkin tüketici davranışları. Akademik Gıda, 2010; 8(5): 20-8.
36. Hıdıroğlu S, Önsüz MF, Kalafat CE, Karavuş M. Ümraniye İlçesinde 1. basamakta sağlık kuruluşlarına başvuran hastaların genetiği değiştirilmiş organizmalar konusunda bilgi, tutum ve davranışları. Fırat Tıp Derg, 2013: 18(3): 176-81.
37. Güner P. Veteriner hekimlerin genetiği değiştirilmiş organizmalarla ilgili düşünce, tutumları. 19. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi, Mart 15-19, Antalya-Türkiye, 2017, 474.

38. Duman ÇS, Uçan S, Şahin KT. Genetiği değiştirilmiş organizmalar hakkında bazı meslek gruplarının görüş ve tutumları. 16. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi. Ekim 28-31, Antalya-Türkiye, 2013, 457.
39. Toklu İH, Öztürk Küçük H. Genetiği değiştirilmiş organizmalı ürünlere yönelik tüketici tutumunun öncülleri ve tutumun satın alma niyetine etkisi. Akad Bak Derg , 2016; 54: 537-55.
40. Özgen Ö, Emiroğlu H, Serpen AS, Benlioğlu B. Halkın genetiği değiştirilmiş ürünlere /üretilme süreçlerine yönelik algıları ve etik inançları. İletişim Kuram ve Araşt Derg, 2013; 37(1): 309-21.
41. Özmert S, Yaman H. Tüketicilerin genetiği değiştirilmiş gıdalara karşı tutumların ve bilgi düzeylerinin belirlenmesi. Kocatepe Vet Derg, 2011: 4(1), 31-41.



## Increased rates of vaccination among healthcare workers through cause-directed solutions: a state hospital example

### Nedene yönelik çözümlerle artan aşılanma oranları: ikinci basamak hastane örneği

Zehra KARACAER<sup>1</sup>, Hüsrev DİKTAŞ<sup>2</sup>

#### ABSTRACT

**Objective:** It was observed in our hospital in the 2013-2014 period that the need existed for the education and motivation of the staff about seasonal flu vaccine (SFV) and hepatitis B virus (HBV) vaccinations. This study was performed to evaluate the success obtained with the solution to the problems related to immunization that were previously uncovered in our hospital.

**Methods:** Data of this study were retrospectively collected from the 2015 and 2016 records of the Infection Control Committee (ICC). During the mentioned period, the ICC performed educational activities regarding the objective, benefits, adverse effects and risk groups of SFV and HBV vaccinations and screening tests, including face-to-face interviews, if necessary. Motivational interviews were conducted with staff who were afraid of the injection. After these activities, serologic tests for HBV and hepatitis C virus (HCV) were carried out on personnel. HBV-sensitive staff were administered a triple vaccine, and their antibody responses were monitored. A 2015-2016 SFV was administered. Participants' age, gender, occupation, department of work, HBV serology outcomes, screening test and reasons for not desiring vaccination with SFV were recorded. The data of the

#### ÖZET

**Amaç:** Aynı hastanede daha önce yapılan bir çalışmada, 2013-2014 sezonunda personelin mevsimsel grip aşısı (MGA) ve hepatit B virüsü (HBV) aşısı konusunda eğitim ve motivasyona ihtiyacı olduğu saptanmıştır. Gerekli eğitici faaliyetlerden sonra yeniden değerlendirme yapılması hedeflenmiştir. Bu çalışma ile hastanede bağışıklama konusundaki sorunların çözümünde elde edilen başarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Bu çalışma, Enfeksiyon Kontrol Komitesi (EKK)'nin 01.01.2015 - 01.05.2016 tarihleri arasındaki kayıtları kullanılarak retrospektif olarak yapılmıştır. Hastanemizde sözü edilen dönemde, EKK tarafından MGA ve HBV aşılması ile tarama testlerinin amacı, yararları, yan etkileri, risk grupları gibi konularda toplu eğitimler verilmiştir. Gerekli görülen hallerde bireysel yüz yüze görüşme şeklinde eğitim faaliyetleri uygulanmıştır. Enjeksiyondan korkan personelle motive edici görüşmeler yapılmıştır. Bu aktivitelerin sonunda personelin HBV ve hepatit C virüsü (HCV) için serolojik tarama testleri yapılmıştır. HBV'ye duyarlı personele üçlü aşı takvimine uygun olarak aşılanma yapılmış ve antikor yanıtları takip edilmiştir. Personele

<sup>1</sup>Gulhane Training and Research Hospital, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Ankara  
<sup>2</sup>Sisli Hamidiye Etfal Gumussuyu Hospital, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Istanbul



İletişim / Corresponding Author : Zehra KARACAER

Gülhane Eğitim ve Araştırma Hast., Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mik. Kliniği Ankara - Türkiye  
Tel : +90 533 727 82 73 E-posta / E-mail : zehrakaracaer@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 12.04.2017  
Kabul Tarihi / Accepted : 16.02.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.91887

Karacaer Z, Diktas H. Increased rates of vaccination among healthcare workers through cause-directed solutions: a state hospital example.  
Turk Hij Den Biyol Derg, 2018; 75(2): 169-174

study were transferred to SPSS IBM 22.0 statistical software, and a  $p < 0.05$  level was considered statistically significant.

**Results:** The level of participation in the study was calculated as 84.3%. The median age of the personnel was 30 (21-61) years, with 137 (54.2%) being women. A total of 198 (78.3%) staff underwent the investigations asked. Thirty-five (17.7%) of the participants were found to be HBV sensitive, 148 (74.7%) vaccinated and 15 (7.6%) natural immunized. The median value was found to be 787.62 IU/mL (10.86-1000 IU/mL) in the participants with positive hepatitis B surface antibody identified. Of the sensitive personnel, 32 (91.4%) were vaccinated for HBV, and reponse to vaccination occurred in all of them. In 55 (21.7%) personnel who rejected being screened, the most common reason for not desiring investigations was determined to be "having no time" (47.3%). Thirty-six (14.2%) participants were administered SFV, and the most common reason for not having SFV was reported as 'having no time'.

**Conclusion:** In this study, it was found that the rates of SFV vaccination slightly increased, while HBV vaccination targets were substantially achieved with the necessary personal education and motivating activities performed. Besides, it was determined that personnel may participate in vaccination with a large proportion if awareness is raised through screening investigations, and educational activities could be effective for increasing the rates of vaccination.

**Key Words:** healthcare personnel, vaccination, hepatitis B virus, seasonal flu vaccine

2015-2016 sezonunda MGA yapılmıştır. Personelin yaş, cinsiyet, meslek, çalıştığı birim, HBV seroloji sonuçları, tarama testi ve MGA yaptırmak istememe nedenleri kaydedilmiştir. Çalışmanın verileri, SPSS IBM 22,0 (SPSS Inc, Chicago, IL) istatistik programına aktararak, istatistiksel açıdan  $p < 0,05$  düzeyi anlamlı olarak kabul edilmiştir.

**Bulgular:** Çalışmaya katılım oranı %84,3 olarak saptanmıştır. Personelin yaş ortancası 30 yıl (21-61 yıl) hesaplanmıştır. Çalışmaya katılanların 137 (%54,2)'si kadındır. Personelden 198 (%78,3)'i istenen tetkikleri yaptırmıştır. Bunların 35 (%17,7)'inin HBV'ye duyarlı, 148 (%74,7)'inin aşı, 15 (%7,6)'inin doğal bağışık olduğu saptanmıştır. Hepatit B antikor (Anti-HBs) pozitif saptanan hastalarda ortancası 787,62 IU/mL (10,86-1000 IU/mL) bulunmuştur. Duyarlı personelin 32 (%91,4)'sine HBV aşısı yapılmış, hepsinde aşı yanıtı olduğu gözlenmiştir. Tarama testlerini yaptırmak istemeyen 55 (%21,7) personelin öncelikli tetkik yaptırmama nedeni zamansızlık (%47,3) olarak saptanmıştır. Personelin 36 (%14,2)'sı MGA yaptırmıştır. MGA yaptırmamanın da öncelikli nedeni "zamansızlık" olarak bildirilmiştir.

**Sonuç:** Bu çalışmada, gerekli bireysel eğitimler ve motive edici faaliyetlerle MGA aşılama oranları bir miktar yükselmiş, HBV aşılama oranı hedeflerine ise büyük oranda ulaşılmıştır. Ayrıca, tarama tetkikleri ile farkındalık sağlandığında, personelin aşılama oranlarında etkili olabileceği, eğitim faaliyetlerinin aşılama oranlarında etkili olabileceği belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** sağlık personeli, aşılama, hepatit B virüsü, mevsimsel grip aşısı

## INTRODUCTION

According to a 2010 report of the European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), our country is one of the European countries with the highest prevalence of the hepatitis B virus (HBV). Healthcare personnel are at high risk for HBV. It is

estimated that 304.000 healthcare workers are injured with a sharp object which has been infected with HBV at least once in Europe every year (1).

According to the 'Extended Immunization Program' notice issued in our country, all healthcare

personnel and students of medical faculties, dentistry faculties and vocational health high schools who have contacts with patients and their excreta have been included in the scope of the vaccination program (2).

Besides HBV, healthcare personnel are recommended to have seasonal flu vaccine (SFV) (3). However, during the H1N1 pandemic seen in our country and around the world in 2009, an important part of both health staff and the rest of the community preferred personal measures, such as washing hands and staying away from crowded environments, and avoided being vaccinated (4,5).

In a study, investigating the effects of hospital policies on SFV rates, the highest rate of vaccination was found to be in the hospitals with encouraging and facilitating activities (6). Meanwhile, the highest level of HBV vaccines was achieved when healthcare personnel accepted having vaccinations as a result of education together with free vaccine supplies (7).

The objective of this study is to evaluate the success achieved in the solution to the problems related to immunization that were previously determined in our hospital (8). Within this context, the personnel's screening tests, the HBV and SFV vaccination rates and the reasons for avoiding being vaccinated were evaluated.

## MATERIAL and METHOD

Data of this study were retrospectively collected from the 2015 and 2016 records of the Infection Control Committee (ICC). The hospital staff were informed about the study and their consents were received.

During the mentioned period, the ICC performed educational activities regarding the objective, benefits, adverse effects and risk groups of SFV and HBV vaccinations and screening tests, including face-to-face interviews, if necessary. Motivational interviews were conducted with staff who were afraid of the injection.

As educational activities, seminars were held on SFV and HBV. In addition, small groups were briefed on the same topic for staff who could not attend the seminars. Visual materials such as brochures and posters were left in the staff recreation rooms. We tried to persuade the staff who were afraid of the needle by making individual conversation at rest time. We also accompanied him/her during injection and blood collection.

Within the scope of the 2015 ICC activities of the hospital; healthcare personnel were asked to undergo serologic screening tests for HBV and hepatitis C virus (HCV), with the cost slated to be met via the hospital budget. These tests were based on volunteering, and written consents were received from the staff concerning whether to undergo these tests. According to the screening test outcomes, HBV-sensitive personnel were administered three doses of the HBV vaccine for free in accordance with the schedule for zero, the first and the sixth months, and antibody responses were closely monitored.

In addition, necessary announcements were made for the 2015-2016-period SFV, which the Ministry of Health supplied for free for the vaccination of the hospital staff.

Personnel who rejected undergoing the screening tests and SFV asked the reasons for this face to face. Participants' age, gender, occupation, department of work, HBV serology outcomes, screening test and reasons for not desiring vaccination with SFV were recorded.

Whereas the staff with completely accessible data who completed HBV vaccination and gave consent were included in the study, personnel still undergoing vaccination, those with inaccessible data or those unwilling to share their data were excluded.

Approval was received from local ethics committee to use these activities of the ICC for scientific purposes (21.06.2016/8000-39-16).

### Statistical analysis

Data of this study were transferred to SPSS IBM 22.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL) statistical software and analyzed using this program. The distribution of the data was evaluated with the Kolmogorov-Smirnov test. Descriptive findings of the counted data are given in the distribution of the frequency and percentage, whereas non-normally distributed data are expressed as a median (minimum-maximum). A  $p < 0.05$  level was considered statistically significant.

### RESULTS

The ICC could reach 253 (84.3%) of the personnel working in our hospital. The median age of the personnel was found to be 30 (21-61) years. Of the participants, 137 (54.2%) were women, and 116 (45.8%) were men. The study included 47 (18.6%) physicians, 97 (38.3%) nurses, 15 (5.9%) nursing staff, 6 (2.4%) data preparation operators, 47 (18.6%) technicians, 36 (14.2%) administrative personnel and 5 (2%) other healthcare personnel (pharmacists, psychologists, dieticians). Of these personnel, 134 (53%) were working in the polyclinics, 24 (9.5%) in clinics, 15 (5.9%) in the operating room, 44 (17.4%) in administrative units, 28 (11.1%) in the laboratory and 8 (3.2%) in the other departments.

A total of 198 (78.3%) staff underwent the investigations asked. Of the patients screened, 35 (17.7%) of the participants were found to be HBV sensitive, 148 (74.7%) vaccinated and 15 (7.6%) natural immunized. The median value was found to be 787.62 IU/mL (10.86-1000 IU/mL) in the participants with positive hepatitis B surface antibody identified. The HBV vaccine was administered in 32 (91.4%) of the sensitive personnel. In the control, after three doses of the vaccine, response to vaccination occurred in all of them. Anti-HCV-negative was found in all of the personnel who underwent screening investigations. Among the 55 (21.7%) personnel who did not accept being screened, the reasons for rejecting investigations were found to be 'having no time' in

26 (47.3%), being vaccinated for HBV in 20 (36.4%), being natural immunized in four (7.3%), recently undergoing investigations in three (5.5%), being afraid of injection in one (1.8%) and not wanting to be vaccinated for HBV in one (1.8%) patient.

Thirty-six (14.2%) personnel underwent SFV. One of 217 (85.8%) persons who rejected being vaccinated for SFV vaccination reported the reason as 'allergic reaction', while the remaining personnel reported the reason as 'having no time'.

### DISCUSSION

It was observed in our hospital in the 2013-2014 period that 13.7% of the personnel were vaccinated with SFV, 17.4% of the personnel were unvaccinated for HBV in 2014 and the need existed for the education and motivation of the staff about immunization (8). Meanwhile, we observed in the present study that the majority of the personnel were screened for HBV and HCV, and the rates of SFV and HBV vaccinations were 14.2% and 13.8%, respectively. It was found that the rates of SFV vaccination slightly increased, while HBV vaccination targets were substantially achieved with the necessary personal education and motivating activities performed.

HBV is the most preferred vaccine in our country among the vaccines that healthcare personnel have to administer (9). In a tertiary healthcare center, 81.8% of the personnel were found to be anti-HBs positive and 16.5% HBV sensitive (10). This vaccine is not easily accessible, which is the most important reason for healthcare personnel not to be vaccinated for HBV. However, a portion of personnel are not aware of this disease or think it is not important (11). Given that healthcare personnel in our country have free vaccination opportunities, we believe that the rates of HBV vaccination could be increased via raising awareness through screening tests as in our hospital.

Healthcare personnel are known to play a role in hospital-borne influenza. Two major factors affecting

the transmission of influenza infections by healthcare staff are the personnel's continuing to work while having the disease and the display of a few or no symptoms despite the spread of the virus (12). In a randomized study performed among healthcare personnel, the effectiveness of the vaccine was demonstrated in 88% of the vaccinated personnel for influenza A and 89% for influenza B (13).

In a previous study conducted in our hospital, the most common reasons for rejecting the undergoing of SFV included not believing its benefits, thinking that people who have previously undergone influenza are not vaccinated, being afraid of the side effects, believing that immunization due to previous vaccination continues and thinking it is harmful. Meanwhile, the most common reason for rejecting the HBV vaccination was found to be 'neglect' (8).

Negative opinions of personnel usually stem from previous vaccination experiences, and they believe they have influenza despite having been vaccinated. In a study that Couto et al. (14) conducted, respiratory symptoms were followed up for four months after vaccination to correct the wrong information about the reliability and effectiveness of SFV. It was determined using molecular methods that 5.3% of the episodes developed were caused by influenza and 27.9% by the other respiratory viruses. With an awareness-raising campaign organized in Germany, the rate of immunization with SFV increased to 26% from 21% among healthcare personnel (15). The realization of risk factors increased the decision to be vaccinated 2,5-fold (16). Increased awareness led to a significant impact, especially on physicians, increasing the rates of vaccination from 21% to 31% (15). Among the personnel who think of themselves as being at risk and undergo vaccination, 89.1% reported they have had SFV vaccination to protect themselves and 55.2% to protect their patients (17).

Methods used in awareness-raising works affect the rates of vaccination. It was found that the strongest factor affecting the decision of healthcare personnel to undergo vaccination was the posters

related to occupational health (9,55-fold) (18). A review conducted on this topic compared the effectiveness of several educational methods, such as flyers, slide shows, conferences, posters and short video shows, with promoting methods, such as vaccination day, high-priced holiday gifts and vaccination for free. Performing and promoting educational activities together was demonstrated to be the intervention that increased the rates of SVF by the highest percentage (19).

In our hospital, the most common reason for not having screening tests and SFV vaccination was reported to be 'having no time'. In our centre, it might be more effective to assign a 'vaccination day' and 'screening day', to take the vaccines to the areas of work of the personnel for them to receive in their spare time; to prepare an environment for the personnel where they would feel safe and to replace the educational material with more striking and impressive methods. Imposing the use of masks for personnel might be an annoying but effective method.

We think demonstrating the positive effects of problem-directed solutions related to immunization activities would provide a contribution to the literature. The most important limitation of this study was that screening tests and vaccination were not mandatory. Although a majority of the personnel could be reached, we could not determine the serologic statuses of all of the participants.

In conclusion, it was determined in this study that personnel may participate in vaccination with a large proportion if awareness is raised with screening investigations, and educational activities could be effective in increasing the rates of vaccination. We believe it would be useful for every healthcare center to identify the problems specific to itself and to evaluate the success of the solutions used. Further studies are needed in our country to compare the effects of the educational and promoting activities on the rates of vaccination of healthcare personnel. Uncertainty remains regarding the most effective method in our society.

## REFERENCES

1. Puro V, De Carti G, Cicalini S, Soldani F, Balslev U, Begovac J, et al. European recommendations for the management of healthcare workers occupationally exposed to hepatitis B virus and hepatitis C virus. *Eurosurveillance*, 2005;10(10):1-9.
2. Anonymous. Genişletilmiş Bağışıklama Programı Genelgesi. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık hizmetleri Genel Müdürlüğü. 2009; B100TSH0110005. Tarih: 13.03.2009/7941. 2009. <http://www.saglik.gov.tr/TR/belge/1-8187/genisletilmis-bagisiklama-programi-genelgesi-2009.html>, (Accessed: Nov,02, 2016).
3. Dokuzoguz B. Updated vaccine recommendation in health care workers. *Ankem*, 2014; 28(Ek 2): 199-206.
4. Ertek M, Sevcancan F, Kalaycioglu H. Pandemic influenza A (H1N1) vaccination status and factors affecting vaccination: Ankara and Diyarbakir 2009 data from Turkey. *Microbiol Bul*, 2011; 45(4): 684-96.
5. Savaser S, Canbulat N, Sahin S. Awareness stages of nursing students about influenza A (H1N1) and it's vaccine. *J İÜFN Hem*, 2011; 19(3): 122-8.
6. Gazmararian JA, Coleman M, Prill M, Hinman AR, Ribner BS, Washington ML, et al. Influenza vaccination of health care workers: policies and practices of hospitals in a community setting. *Am J Infect Control*, 2007; 35(7): 441-7.
7. Launay O, Le Strat Y, Tosini W, Kara L, Quelet S, Lévy S, et al. Impact of free on-site vaccine and/or healthcare workers training on hepatitis B vaccination acceptability in high-risk subjects: a pre-post cluster randomized study. *Clin Microbiol Infect*, 2014; 20(10): 1033-9.
8. Karacaer Z, Ozturk I, Cicek H, Simsek S, Duran G, Gorenek L. The knowledge, attitudes and behaviors on immunization of healthcare workers. *TAF Prev Med Bull*, 2015; 14(6): 353.
9. Koruk I, Tekin Koruk S, Tuncer K, Demir C, Kara B, Seyhanoglu AS. The immunization level of healthcare workers against occupational infectious diseases in Şanlıurfa. *Klimik*, 2014; 27(2): 48-56.
10. Baysal B, Kaya S. Seroprevalance of HBV, HCV and HIV among health care workers in a training and research hospital. *Viral Hepatitis J*, 2012; 18(3): 94- 7.
11. Chaudhari CN, Bhagat MR, Ashturkar A, Misra RN. Hepatitis B immunisation in health care workers. *MJAFI*, 2009; 65(1): 13-7.
12. Gavazzi G. Influenza vaccination for healthcare workers: from a simple concept to a resistant issue? *Ageing Clin Exp Res*, 2009; 21(3): 216-21.
13. Wilde JA, McMillan JA, Serwint J, Butta J, O'Riordan MA, Steinhoff MC. Effectiveness of influenza vaccine in health care professionals: a randomized trial. *J Am Med Assoc*, 1999; 281(10): 908-13.
14. Couto CR, Pannuti CS, Paz JP, Fink MCD, Machado AA, de Marchi M, et al. Fighting misconceptions to improve compliance with influenza vaccination among health care workers: an educational project. *PLoS One*, 2012; 7(2): 1-6.
15. Leitmeyer K, Buchholz U, Kramer M, Schenkel K, Stahlhut H, Köllstadt M, et al. Influenza vaccination in German health care workers: effects and findings after two rounds of a nationwide awareness campaign. *Vaccine*, 2006; 24 (47-48): 7003-8.
16. Esposito S, Bosis S, Pelucchi C, Tremolati E, Sabatini C, Semino M, et al. Influenza vaccination among healthcare workers in a multidisciplinary University hospital in Italy. *BMC Public Health*, 2008; 8(422): 1-10.
17. Maltezou HC, Maragos A, Katerelos P, Paisi A, Karageorgou K, Papadimitriou T, et al. Influenza vaccination acceptance among health-care workers: a nationwide survey. *Vaccine*, 2008; 26:1408-10.
18. Qureshi AM, Hughes NJM, Murphy E, Primrose WR. Factors influencing uptake of influenza vaccination among hospital-based health care workers. *Occup Med*, 2004; 54(3): 197-201.
19. Schmidt S, Saulle R, Di Thiene D, Boccia A, La Torre G. Do the quality of the trials and the year of publication affect the efficacy of intervention to improve seasonal influenza vaccination among healthcare workers? results of a systematic review. *Hum Vaccines Immunother*, 2013; 9(2): 1-13.

## Adıyaman ili Kâhta ilçesinde bir öğrenci yurdunda görülen gıda kaynaklı salgın, Şubat 2015

### A foodborne outbreak in a dormitory in Kahta district in Adıyaman province, February 2015

Zeynep GÜNEŞ-ÇELEBİ<sup>1</sup>, Demet BÖREKÇİ<sup>2</sup>, Figen SEZEN<sup>3</sup>, Fehminaz TEMEL<sup>3</sup>, Mustafa DOST<sup>4</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Adıyaman İli Kahta İlçesinde bir kız öğrenci yurdunda, 24 Şubat 2015 tarihinde akşam yemeğinden sonra öğrenciler, bulantı ve karın ağrısı şikâyetleri ile Kahta Devlet Hastanesi'ne başvurmuşlardır. Bu çalışma, gıda kaynaklı salgının kaynağını bulaş yolunu ortaya çıkarmak ve kontrol önlemlerini almak amacıyla yapılmıştır.

**Yöntem:** Bu çalışmada, retrospektif kohort araştırması yapılmıştır. Araştırma kohortu; akşam yemeği yiyen öğrenciler, öğretmenler ve çalışanlar ile toplam 227 kişiden oluşmaktadır. Analizlerde olası vaka tanımı kullanılmıştır. Olası vakalar, 24-25 Şubat 2015 tarihlerinde karın ağrısı, bulantı, ishal şikâyetlerinden herhangi biri bulunanlardır. Anketler yüz yüze yapılmıştır. Yurt ve yemekhane lavabo musluklarından, sebilden alınan su numunelerinin mikrobiyolojik kalitesini değerlendirmek için membran filtrasyon metodu kullanılmıştır. Mutfak personelinin burun ve dışkı numuneleri kültür yöntemiyle *Salmonella* - *Shigella* etkenleri açısından incelenmiştir. Şahit numune saklanmadığından tüketilen tüm gıdalardan numune alınamamıştır. Sadece akşam yemeğinden kalan tavuk

#### ABSTRACT

**Objective:** In a dormitory for female students in Adıyaman province, Kahta district on 24 February 2015 after the dinner the students admitted to Kahta Public Hospital. This research was conducted to identify the cause of occurred foodborne outbreak, mode of transmission and to implement control measures.

**Methods:** A retrospective cohort investigation was conducted. The cohort included 227 people of all students, teachers and staff who participated the dinner. Probable case definition was used in the analyzes. Probable case was onset of abdominal pain, nausea and diarrhea during 24-25 February 2015. Data was collected through a face to face questionnaire. membrane filtration method was used to assess the quality of water, samples taken from the dormitory, the cafeteria and water distribution. Nasal and stool samples of kitchen staff were analyzed by culture method *Salmonella* - *Shigella*. Since samples of foods were not stored, samples were not taken from all consumed foods. Only samples of chicken tantuni and raw chicken were taken from the dinner. Raw chicken and chicken tantuni were cultured to identify

<sup>1</sup>İstanbul Halk Sağlığı Müdürlüğü

<sup>2</sup>Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Bulaşıcı Hastalıklar Daire Başkanlığı

<sup>3</sup>Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Erken Uyarı-Cevap ve Saha Epidemiyolojisi Daire Başkanlığı

<sup>4</sup>Adıyaman Halk Sağlığı Müdürlüğü



İletişim / Corresponding Author : Zeynep GÜNEŞ-ÇELEBİ

Seyitnizam Mah, Mevlana Caddesi No: 81/83 Zeytinburnu İstanbul - Türkiye  
Tel : +90 538 348 08 83 E-posta / E-mail : zeynepgunes01@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 13.02.2017  
Kabul Tarihi / Accepted : 16.02.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.75547

Güneş-Çelebi Z, Böreççi D, Sezen F, Temel F, Dost M. Adıyaman İli Kâhta İlçesinde bir öğrenci yurdunda görülen gıda kaynaklı salgın, Şubat 2015.  
Turk Hij Den Biyol Derg, 2018; 75(2): 175-182

tantuni ve pişirilmemiş tavuktan numuneler alınmıştır. Çiğ tavuk ve tavuk tantuni numuneleri, koagülaz pozitif stafilocok, *Salmonella* spp., sülfid indirgeyen anaerob bakteri, *Bacillus cereus* yönünden incelenmiştir.

**Bulgular:** Atak hızı %51 (116/227)'dir. Şikâyetler bulantı (%77,6), karın ağrısı (%73,3), ateş (%44), ishal (%25) ve kusmadır (%12,1). Akşam yemeğinde mercimek çorbası, tavuk tantuni, turşu, ayran, elma ve tatlı servis edilmiştir. İlk salgın piki, 24 Şubat akşam yemeğinden sonra ortaya çıkmıştır. Ortalama inkübasyon süresi üç saattir (en kısa: 0, en uzun: 28 saat). Diğer faktörler kontrol edildiğinde, hastalarda mercimek çorbası yeme sıklığı sağlamlara göre 2,2 kat daha fazladır (%95 GA: 1,2-3,9). Yemek, su ve klinik numunelerde patojen mikroorganizma ürememiştir.

**Sonuç:** Bu salgına kontamine mercimek çorbasının neden olduğu düşünülmüştür. Sonuçlar, *B. cereus* toksininin neden olduğu epidemiyolojik salgın bulguları ve klinik bulgularla uyumludur. Mutfak çalışanlarına hijyen eğitimi verilmiş, yurt mutfağı kapatılmış ve onarılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** kohort çalışmaları, gastroenterit, gıda kaynaklı hastalıklar, salgınlar

to coagulase positive Staphylococcus, *Salmonella* spp., sulphite-reducing anaerob, *Bacillus cereus*.

**Results:** Attack rate was 51% (116/227). The symptoms included nausea (77.6%), abdominal pain (73.3%), self-reported fever (44%), diarrhea (25%), and vomiting (12.1%). At the dinner lentil soup, chicken tantuni, pickle, ayran, apple and dessert were served. The epi curve showed the first peak on 24 February after the dinner. Median incubation period was three hours (min.0, max.28 hours). After controlling other factors, consuming lentil soup was 2.2 times in cases compared to controls (95% CI: 1.2-3.9). Food, water and clinic samples were tested negative for pathogen microorganisms.

**Conclusion:** This outbreak was likely due to contaminated lentil soup. The results are compatible with clinical and epidemiological findings of outbreaks caused by *B. cereus* toxins. Kitchen staff was educated on hygiene practices. The kitchen of the dormitory was closed and rehabilitated.

**Key Words:** cohort studies, gastroenteritis, foodborne diseases, outbreaks

## GİRİŞ

Gıdalarla bulaştığı bilinen 200'den fazla hastalık bulunmaktadır. Bu hastalıkların etkenleri virüsler, bakteriler, parazitler, toksinler, metaller ve prionlardır (1). Amerika Hastalık Kontrol ve Koruma Merkezi (CDC)'nin tahminine göre; gıda kaynaklı hastalık her yıl altı Amerikalıdan birinin (48 milyon) hastalanmasına, 3000 kişinin ise ölümüne neden olmaktadır (1). Yine yapılan başka bir çalışmada, 1998-2008 yıllarında (CDC)'den bildirilen salgınların %30'unun etiyolojisi bilinmemektedir (2). Gastrointestinal bulaşıcı hastalıklar konusunda yapılmış olan kapsamlı çalışmalar, hastalıkların %50-60'ında etkenlerin tanımlanamadığını göstermektedir. Buna ek olarak, gastrointestinal hastalıklara neden olan *B.cereus* gibi

toksin üreten bakteriler, tanı araçlarının eksikliği nedeniyle ihmal edilmektedir (3). Ülkemizde yapılan bir çalışmada, toplam 98 besin zehirlenmesi olgusunun %11'inde dışkı ve/veya kusmuk kültürü alınmış, ancak herhangi bir etken üretilememiştir. Kültür 87 (%88,7) olgudan alınmamıştır (4).

Salgınlarda etkenin belirlenebilmesi için en kısa zamanda klinik ve çevresel numunelerin alınması ve bulaş yolunun tespiti gereklidir.

Adıyaman Halk Sağlığı Müdürlüğü tarafından, 24.02.2015 tarihinde Kâhta ilçesinde kız öğrenci yurdunda, akşam yemeğinden sonra öğrencilerde bulantı ve karın ağrısı şikâyetleri ortaya çıktığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Erken Uyarı Cevap ve



Saha Epidemiyolojisi Daire Başkanlığı'na bildirilmiştir.

Bu çalışma; mevcut salgını kontrol altına almak, etkeni belirlemek, kaynağı ve bulaş yolunu tespit etmek, gelecekte olabilecek salgınları önlemek amacıyla 25.02.2015 tarihinde yapılmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Kız öğrenci yurdundaki öğrencilerin altı farklı okulda eğitim görmekte olduğu ve öğlen yemeklerini farklı yerlerde yedikleri öğrenilmiştir. Akşam yemeğini ise yurttaki tüm öğrenciler ile üç nöbetçi öğretmen ve sekiz personelin yediği bilgisi alınmıştır. Elde edilen tüm bu bilgilerin ışığında, öğrenci yurdundaki salgının nedeninin akşam yenilen yemek/yemekler olduğu düşünülmüştür. Bu çalışmada, araştırma evreninin kapalı grup olması nedeni ile retrospektif kohort olarak planlanmış, 24 Şubat 2015 tarihinde öğrenci yurdunda akşam yemeği yiyen 227 kişi kohortu oluşturmuştur.

Olası Vaka, “öğrenci yurdunda 24-25 Şubat 2015 tarihlerinde karın ağrısı, bulantı, ishal şikâyetlerinden herhangi biri” olanlar olarak belirlenmiştir.

Çalışmamızdaki demografik özellikler, öğle yemeği yeme durumu, akşam yemeği yeme durumu, içme suyu tüketimi, şikâyet başlama tarihi, şikâyetler, sağlık kuruluşuna başvuru olup olmadığı bilgilerinin yer aldığı 13 sorudan oluşan bir anket formu hazırlanmıştır. Anket uygulaması için 16 sağlık personeline anket uygulama eğitimi verilmiştir. Anketler, öğrenci yurdunda 26.02.2015 tarihinde yüz yüze uygulanmıştır. Araştırma kohortunun (n=227) %99,9'una (n=226) ulaşılmıştır. Yurtta bulunamayan ve telefonla kendisine ulaşılamayan bir kişiye anket uygulanamamıştır.

Epi Info 3.5.4. ve SPSS 22 paket programları kullanılarak tanımlayıcı ve ileri analizler, olası vaka tanımına uyan 116 hasta ile 110 sağlam kişi üzerinden yapılmıştır. Verilerin analizinde; yüzde dağılımları, atak hızı, olası risk faktörlerini değerlendirmek için %95 güven aralığı (GA), %5 hata payı, rölatif risk (RR) hesaplamaları kullanılmıştır. Tek değişkenli analizde,

anamlı olanlar modele konarak lojistik regresyon ile analiz edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık düzeyi %5 olarak kabul edilmiştir.

Öğrenci yurdu ve yemekhane sebilinden 25.02.2015 tarihinde alınan numunelerin analizleri Adıyaman Halk Sağlığı Laboratuvarı'nda İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmeliğin kontrol izleme parametrelerine göre membran filtrasyon metodu ile yapılmıştır.

Hastaneye başvuru sırasında hastaların ishal şikâyeti olmadığından gaita numunesi alınamamıştır. Çalışan bir aşçı ve altı mutfak çalışanından tamamına ilçe devlet hastanesinde portör muayenesi yapılmıştır. Mutfak çalışanlarından alınan gaita numuneleri kültür yöntemiyle *Salmonella-Shigella* etkenleri açısından incelenmiştir.

Yemeklerden şahit numune alınmadığından ve tavuk tantuni haricinde yemek kalmadığından İl Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü 25.02.2015 tarihinde tavuk tantuni (yeşillik /salata ile beraber) ve çiğ tavuktan numune almıştır. Gıda numuneleri için koagülaz pozitif stafylokok, *Salmonella* spp., sülfid indirgeyen anaerob bakteri, *B. cereus* açısından incelenmiştir.

## BULGULAR

Adıyaman İli Kâhta İlçesinde yapılan çalışmada, yurdun kız öğrenci yurdu olması nedeniyle katılımcıların %97,8'i kadın, %2,2'si erkektir. Atak hızı %51 (116/227) bulunmuştur.

Yurtta on personel görev yapmakta, bunlardan yedi personel yemekhanede çalışmaktadır. Mutfak çalışanlarının hijyen eğitim sertifikaları yoktur. Yemekler yurtla aynı bahçede olan müstakil tek katlı yurt yemekhane binasında yapılmaktadır. Yemekhanede mutfak, bulaşıkhanesi ve yemek yenilen bölüm bulunmaktadır. Mutfak bölümünde; kilerde kuru yiyecekler, soğuk hava deposunda yaş meyve ve sebzeler saklanmaktadır. Yemeklerin hazırlandığı mutfakta, duvarların aktığı, boyasının döküldüğü, tezgâhın muhtelif yerlerinde çatlak ve dökülmelerin

olduğu görülmüştür. Yemek hazırlama ve saklama koşulları incelenmiştir. Soğuk hava deposunun manuel olarak  $-10^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlanmış ve hava ile soğutulduğu, ancak depo sıcaklık derecesinin ölçülmesi için termometrenin olmadığı, sıcaklık takibinin yapılmadığı ve kayıt altına alınmadığı tespit edilmiştir. Öğrencilerin içme suyu ihtiyacı yemekhanede bulunan sebilden karşılanmaktadır.

Akşam yemeği 17.00-18.00 saatleri arasında verilmiş, yemekte mercimek çorbası, yarım ekmeğin içinde tavuk tantuni ve yeşillik/salata (domates, soğan, maydanoz), ayran, biber turşusu ve elma servis edilmiştir. Ayrıca açıcıdan, bazı öğrencilerin öğle

yemeğinden kalan halka tatlısını yediği öğrenilmiştir.

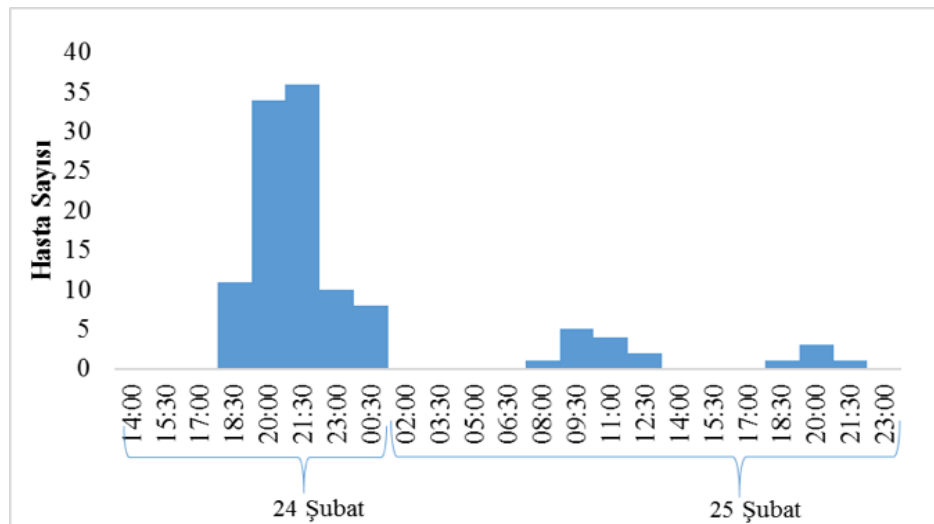
Hastaların tamamı öğrenci olup yaş ortalaması  $16,1 \pm 1,6$  yıldır. Yurt çalışanlarının ve nöbetçi öğretmenlerin yakınması yoktur. Hastalarda; %77,6 bulantı, %73,3 karın ağrısı, %44 kişi ifadesine göre ateş, %25 ishal ve %12,1 kusma semptomları bulunmaktadır (Tablo 1).

Hastaların şikâyetlerinin genelde, 24 Şubat 2015 saat 21.30'da başladığı, bununla birlikte ertesi gün saat 8.00-12.30 arasında ve 18.30-21.30 arasında iki ayrı grup vakanın ortaya çıktığı görülmüştür. Ortanca inkübasyon süresi üç saattir (En kısa: 0-En uzun: 28 saat) (Şekil 1).

Tablo 1. Hastalarda şikâyetlerin dağılımı, Adıyaman - Şubat 2015

| Şikâyetler   | Sayı | Yüzde (%) |
|--------------|------|-----------|
| Bulantı      | 90   | 77,6      |
| Karın ağrısı | 85   | 73,3      |
| Ateş         | 51   | 44,0      |
| İshal        | 29   | 25,0      |
| Kusma        | 14   | 12,1      |
| Diğer*       | 37   | 31,9      |

\* Baş ağrısı, baş dönmesi, mide yanması, halsizlik, boğaz yanması, bayılma, üşüme-titreme.



Şekil 1. Hastaların şikâyet başlama tarihlerine göre dağılımı, Adıyaman - Şubat 2015

İçilen su tipi ile hastalanma durumu arasında bir ilişki bulunmamıştır ( $p=0,4$ ). Akşam yemeğinde tüketilen yemeklerin hastalıkla ilişkisi incelendiğinde mercimek çorbası yiyenlerde yemeyenlere göre hastalanma riski 1,5 (1,1-2,1) kattır. Biber turşusu tüketenlerde ise tüketmeyenlere göre hastalanma riski ise 1,3 (1,0-1,7) kattır. Halka tatlısı tüketmek ise hastalık riskini 0,7 (0,4-1,1) kat artırmaktadır. Tavuk tantuni yemek ve ayran tüketmekle hastalık arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Halka tatlısı ve biber turşusu tüketimi kontrol edildiğinde mercimek çorbası tüketmek tahmini rölatif riski (TRR) 2,2 (1,2-3,9) kattır (Tablo 2).

Gıda numuneleri ve portör muayene kapsamında alınan gaita numuneleri incelenen etkenler açısından negatif bulunmuştur. Aşçı ve mutfak çalışanlarından alınan burun sürüntüsünde normal burun florası üremiştir. İncelenen su numuneleri İnsani Tüketim Amaçlı Sular Yönetmeliği'ne göre uygun bulunmuştur.

Akşam yemeğinde tüketilen mercimek çorbasında kullanılan mercimekler, aşçıdan alınan bilgiye göre iki üç kez su ile yıkanarak pişirilmiş, tuz, biber, salça ve yağda pişirilerek çorbanın üzerine dökülmüş, saat 16.00'da hazırlanmıştır. Mercimek çorbasının nasıl ve ne ile kontamine olduğu bulunamamıştır.

## TARTIŞMA

Gıda kaynaklı hastalıklar; enfeksiyonlar (bakteriler, virüsler vb.) ve zehirlenmeler (toksinler, kimyasallar) olarak ikiye ayrılmaktadır. (5, 6). Zehirlenmeler, aniden başlayabildiği gibi kontamine olmuş gıdaların tüketilmesinden 30 dakika ile 72 saat sonra ortaya çıkabilmektedir (7). Başlıca gıda zehirlenmesi nedenleri *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*'dir (6).

Bu çalışmada, ortanca inkübasyon süresi üç saattir. Bu inkübasyon süresiyle uyumlu gıda zehirlenmelerinin etkenleri *S. aureus* ve *B. cereus* toksinleridir (6).

*Staphylococcus aureus*; insanların burnunda, boğazında ve derisinde bulunabilmektedir. Etkenin temel bulaş kaynağı besinle uğraşan kişilerdir. Bu bakteri, özellikle süt ürünleri, salatalar, kremalı pastalar, diğer tatlılar, çiğ et ve kümes hayvanı etlerinde kolayca üremektedir. Ürettikleri ısıya dayanıklı enterotoksinler insanlarda gastroenterite neden olmaktadır. Bu toksinler, yiyeceklerin yenilmesinden 1-7 saat sonra bulantı, karın ağrısı, kusma ve ishale neden olmaktadır (7-9).

*Bacillus cereus* ise sporlu bir bakteri olup, doğada toz, toprak, su, yeşil ve çürüyen bitkilerde

Tablo 2. Akşam yemeğinde tüketilen yemeklerin hastalandırma durumu, Adıyaman - Şubat 2015

| Yemekler      | Atak Hızı % | Toplam | RR  | %95 GA  | TRR <sub>adj</sub> | %95 GA  |
|---------------|-------------|--------|-----|---------|--------------------|---------|
| Çorba         | 58          | 152    | 1,5 | 1,1-2,1 | 2,2                | 1,2-3,9 |
| Tantuni       | 52          | 224    | 1,6 | 0,3-7,7 |                    |         |
| Biber Turşusu | 58          | 119    | 1,3 | 1,0-1,7 | 1,6                | 0,9-2,7 |
| Ayran         | 52          | 181    | 1,1 | 0,8-1,5 |                    |         |
| Halka Tatlısı | 36          | 28     | 0,7 | 0,4-1,1 | 0,5                | 0,2-1,1 |

bulunabilir. Özellikle bazı gıda ürünleri *B. cereus* kontaminasyonu açısından daha büyük risk taşımaktadır. Bunlar arasında; işlenmemiş tahıllar, nişastalı besin maddeleri, et ve süt ürünleri, kuru gıdalar ile baharatlar yer almaktadır (9). Pişirme ısısına dayanıklı olan bakteri sporları, yemeklerin uygun koşullarda saklanmaması sonucu vejetatif forma geçerek toksin salgılayıp, kontamine yiyecekler ile gıda zehirlenmesine yol açarlar. *B. cereus* salgıladığı toksinlerle iki farklı klinik tablo oluşturur. Emetik tipte gıda zehirlenmesinde ısıya dayanıklı ekzotoksinler, kontamine yiyeceklerin tüketilmesinden 1-6 saat sonra bulantı ve kusma şikâyetlerine neden olurlar. Bazen karın ağrısı ve ishal gözlenebilir. İshal ile seyreden gıda zehirlenmesinde ise ısıya duyarlı ekzotoksinler, kontamine yiyeceklerin tüketilmesinden 10-15 saat sonra ishale neden olurlar (10).

Stalen ve ark. (11), yaptığı araştırmada, *B. cereus* (ishal tipi) kaynaklı gıda zehirlenmesinde ortanca inkübasyon süresi 12 saat, Khodur ve ark. (12) tarafından yapılan araştırmada ise *B. cereus* (emetik form) etkeninden kaynaklı gıda zehirlenmesinde ortanca inkübasyon süresi iki saat bulunmuştur. Çalışmamızda, bulunan ortanca inkübasyon süresi emetik form ile uyumludur. Yine aynı çalışmada vakalarda şikâyetlerin bulantı (%71) ağırlıklı, ishalin ise daha az (%14) olduğunu bulmuşlardır (12). Kamga Wambo ve ark. (13) yaptıkları çalışmada, vakalarda ağırlıklı şikâyetlerin kusma ve karın ağrısı olduğunu, ortanca inkübasyon süresinin dört saat olduğunu hesaplamışlar, muhtemel etkenin *B. cereus* emetik formu olabileceğini düşünmüşlerdir. Zubaroglu ve ark. (14)'nin yaptığı çalışmada, etken *S. aureus* olarak bulunmuş, ortanca inkübasyon süresi üç saat 30 dakika olarak hesaplanmış, olası vakaların tamamında ishal ve kusma görülmüş, %94,7'sinde bulantı, %83'ünde karın ağrısı, %38'inde ateş şikâyetleri olduğu görülmüştür. Teague ve ark. (15)'nin yaptığı çalışmada, etkenin *S. aureus* olduğu salgında vakaların %86'sında bulantı, %77'sinde ishal, %77'sinde karın ağrısı, %69'unda kusma olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda; bulantı,

karın ağrısı şikâyetlerinin ağırlıklı olması, ishal ve kusma şikâyetlerinin daha az görülmesi olası etkenin *B. cereus* veya *S. aureus* toksini olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca öğrencilerin yaklaşık yarısında ateş olduğu da tespit edilmiştir. Ancak ateş, düşünülen etkenlerin yol açtığı klinik tabloda çok sık rastlanan bir semptom değildir. Ateş, ölçülmemiş olup, öğrencinin kendi ifadesi ile belirtilmiştir. Ayrıca öğrencilerin başvurduğu hastanedeki klinisyenler vakalarda gördükleri bulgular arasında ateşin olmadığını görmüştür.

Çalışma sonucunda, salgın nedeninin bir tahıl ürünü olan mercimek çorbasının bulunması muhtemel etkenin *B. cereus* toksini (emetik form) hipotezi güçlendirmiştir.

Hastaneye başvuru sırasında, hastalarda ishal olmaması nedeniyle sonradan ishali olan öğrencilerin tespiti gecikmiş, gaita numunesi alınamamıştır. Bu salgın incelemesinde, eldeki klinik numunelerde ve gıdada etken saptanamamıştır. Ancak elde edilen epidemiyolojik bilgiler salgına neden olan etkenin *B. cereus* toksinin emetik formu olabileceğini göstermiştir. Bu salgın incelenmesi, yurtda daha sonra olabilecek salgınların önlenmesi amacıyla yapılmış ve yurt çalışanlarına da bu konuda eğitim verilmiştir. Gıda kaynaklı salgınlar, insan sağlığı etkilerinin yanı sıra önemli ekonomik kayıplara da neden olmaktadır.

CDC tarafından, ABD'de her yıl gıdayla ilgili hastalıklardan tahminen 48 milyon yeni vakanın ortaya çıktığını, üç bin ölüm ve 128 bin hastaneye yatışı olduğunu bildirmiştir. Scharff'ın (16) çalışmasında ise bu verileri kullanarak bunun yıllık maliyet yükünü hesaplamıştır. Gelişmiş maliyet yükü olarak tıbbi harcamalar, üretim gücü kaybı, ölüm yanında ağrı ve acı değerleri de hesaba katılmıştır. Buna göre, gıda kaynaklı hastalıkların gelişmiş maliyeti ortalama 77,7 (28,6-144,6) milyon dolar olarak hesaplanmıştır. *B. cereus*'un etken olduğu gıda kaynaklı hastalıkların gelişmiş maliyeti ise ortalama 15 (1-46) milyon dolar olarak hesaplanmıştır (16). Yemek pişirenlerin hijyen eğitimi alması, yemekhanelerin denetim ve kontrollerinin yapılması, yemeklerin iyi pişirilmesi,

temiz su kullanılması, pişen yemeklerin uygun koşullarda saklanması ve transfer edilmesi gibi uygulamalar ile birçok gıda salgını önlenerek maliyet yükü azaltılabilmektedir (17).

Gıda zehirlenmesi olan akşamın ertesi günü olayın basına yansmasıyla mutfak ve yemekhanenin tüm alanları temizlenmiş olduğundan çevre numunesi alınamamış, mercimek çorbasının nasıl kontamine olduğu bulunamamıştır. Gıda zehirlenmesinin ertesi günü hastaların ortaya çıkması, kahvaltı ve akşam yemeğinde de devam eden kontaminasyonun olabileceğini düşündürmüştür. Ancak önerilerimiz doğrultusunda, salgından sonra yemekhane kapatılıp, tadilat yapıldıktan sonra tekrar faaliyete geçmiş, soğuk hava deposuna termometre alınmış, düzenli sıcaklık takibi yapılması sağlanmıştır.

Aşçı ve yemekhane çalışanlarına sertifikalı hijyen eğitimi verilmiştir. Bundan sonraki dönemlerde, yemekhanede şahit numune saklanması için buzdolabı alınmış ve üzerine şahit numune saklanma koşulları ile ilgili bilgilendirme yazısı konulmuştur. Tüm bu önlemler ve uygulamalar ile gıda kaynaklı salgınların aynı veya farklı mikrobiyolojik etkenler ile belki de daha ciddi sağlık sorunları ile tekrarlaması önlenmeye çalışılmıştır.

Bu nedenle, bu tür gıda kaynaklı salgınların incelenmesi, etkenin, kaynağın saptanması, konuyla ilgili elde edilen epidemiyolojik veriler doğrultusunda halk sağlığı eylemlerinin harekete geçirilmesi ve gelecekte oluşabilecek salgınların önlenmesi açısından son derece önemlidir.

## KAYNAKLAR

1. Anonymous. CDC 2011 estimates: findings. <https://www.cdc.gov/foodborneburden/2011-foodborne-estimates.html>, (Access Date: 14.11.2017).
2. Gould LH, Walsh KA, Vieira AR, Herman K, Williams IT, Hall AJ, et al. Surveillance for foodborne disease outbreaks, United States, 1998-2008. USA: CDC. Surveillance Summaries, 2013; 62(SSO2):1-34.
3. Newell DG, Koopmans M, Verhoef L, Duizer E, Aidara-Kane A, Sprong H, et al. Food-borne diseases - the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *Int J Food Microbiol*, 2010;139: 3-15.
4. Bütün C, Beyaztaş FY, Engin A, Büyükkayhan D, Can M. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı'na başvuran besin zehirlenmesi olgularının değerlendirilmesi. *Van Tıp Derg*, 2009;16(1):19-23.
5. Özkaya FD, Cömert M. Gıda zehirlenmelerinde etken faktörler. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2008; 65(3):149-58.
6. David LH. Control of Communicable Diseases Manual. 19th ed. Washington: American Public Health Association, 2008.
7. Bilici S, Uyar MF, Beyhan Y, Sağlam F. Besin Zehirlenmeleri, Nedenleri ve Korunma Yolları. Birinci Basım. Ankara: Klasmat Matbaacılık, 2008.
8. Bennett R. Staphylococcus aureus. In: Lampel KA, Al-Khaldi S, Cahill SM, eds. Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. 2nd Ed. US: FDA. 2012; 87-91.
9. Eliçevik Ş, Uçar F, Yalçın HT. Gıda kökenli Bacillus cereus strainlerinin bakteriyosin üretme kapasitelerinin araştırılması. *Elektr Mikrobiyol Derg*, 2008; 06 (3): 25-38.
10. Anonymous. Bacillus cereus Enfeksiyonu Ulusal Mikrobiyoloji Standartları. Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. Ankara: Halk Sağlığı genel Müdürlüğü. 2014.

11. Slaten DD, Oropeza RI, Werner SB. An outbreak of bacillus cereus food poisoning-are caterers supervised sufficiently. *Public Health Rep*, 1992;107 (4): 477-80.
12. Khodr M, Hill S, Perkins L, Stiefel S, Comer-Morrison C, Lee S, et al. Epidemiologic Notes and Reports Bacillus cereus Food Poisoning Associated with Fried Rice at Two Child Day Care Centers - Virginia 1993. USA: CDC.1994; 43(10): 177-8.
13. Kamga Wambo GO, Burckhardt F, Frank C, Hiller P, Wichmann-Schauer H, Zuschneid I, et al. The proof of the pudding is in the eating: an outbreak of emetic syndrome after a kindergarten excursion, Berlin, Germany, December 2007. *Euro Surveill*, 2011;16 (15): 11-6.
14. Zubarođlu AH, Boz A, Topal S, Temel F, Sucaklı MB, Levent B, et al. Food poisoning caused by staphylococcus in various workplaces getting food from the same catering company in Manisa. *Turk Bull Hyg Exp Biol*, 2015; 72 (3):209-18.
15. Teague NS, Grigg SS, Peterson JC, Army US, Gomez GA, Talkintong DF. Outbreak of staphylococcal food poisoning from a military unit lunch party- United States, July 2012. USA: CDC. 2013; 62 (50):1026-8.
16. Scharff RL. Economic burden from health losses due to foodborne illness in the United States. *J Food Prot*, 2012;75:123-31.
17. Anonymous. The five keys to safer food programme. [http://www.who.int/foodsafety/areas\\_work/food-hygiene/5keys/en/](http://www.who.int/foodsafety/areas_work/food-hygiene/5keys/en/), (Acces Date: 02.06.2015).

## Yara kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik dirençleri, 2010-2015

### Microorganisms and antibiotic resistances isolated from wound cultures, 2010-2015

Nezire Mine TURHANOĞLU<sup>1</sup>, Esra KOYUNCU<sup>1</sup>, FULYA BAYINDIR-BİLMAN<sup>2</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Yara yeri enfeksiyonları, hastane kaynaklı enfeksiyonların en yaygın olanlarından birisidir. Önemli bir morbidite ve mortalite sebebidir. Çalışmamızda, yara yeri örneklerinden izole ettiğimiz mikroorganizmaların dağılım oranları ve antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiş, ampirik tedavi seçeneklerine yol gösterici, hekimlerin kontrollü ve akılcı antibiyotik kullanımına yardımcı olması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Yara örneklerinden 2010-2015 yılları arasında üretilen toplam 693 bakteri ve mantarın dağılım oranları araştırılmıştır.

**Bulgular:** Üreyen mikroorganizmaların %52,5 (364)'ini Gram pozitif koklar, %42,9 (297)'unu Gram negatif basiller ve %4,6 (32)'sını mantarlar oluşturmuştur. Gram pozitif bakteriler arasında en sık rastlananlar %88,1 ile stafilokoklar olurken, bunların %41,4'ünün *Staphylococcus aureus* olduğu görülmüştür. Gram negatif bakterilerden en sık *Escherichia coli* (%30,6) ve *Pseudomonas* türleri (%18,2) gözlenmiştir. Üreyen mikroorganizmaların %4,6'sını maya mantarları oluşturmuştur. Direnç durumlarına bakıldığında metisilin direnci *S. aureus*'ta %35,8, koagülaz negatif stafilokoklar (KNS)'da %71,1 oranlarında bulunmuş; en yüksek ve en düşük direnç sırasıyla *S. aureus*'ta %81,4 ile penisiline,

#### ABSTRACT

**Objective:** Wound site infection is one of the most common infections caused by hospital. It is an important cause of morbidity and mortality. In our study, distribution rates and antibiotics susceptibility of microorganisms we isolated from infection site samples have been determined, and it has been aimed that they should be a guide to empirical treatment options and should help physicians' controlled and rational usage of antibiotics.

**Methods:** Distribution rates of a total of 693 bacteria and fungi have been investigated, which were generated from wound patterns in 2010-2015.

**Results:** 52.5% (364) of reproduced microorganisms consisted of Gram negative coccus, 42.8% (297) of Gram negative basil and 4.61% (32) of fungus. For Gram positive bacteria, the most common ones are staphylococcus with 88.1%, while 41.4% of them are observed to be *Staphylococci aures*. For Gram negative bacteria, *Escherichia coli* (30.6%) and *Pseudomonas* species (18.2%) are observed to be the most common. Yeast fungi constitutes the 4.6% of the reproduced microorganisms. Considering their resistance status, the resistance to methicillin was found to be 35.8 % in *S. aureus*, 71.1% in CoNS (coagulase-negative staphylococci), the highest and the lowest resistance

<sup>1</sup>Selahaddin Eyyübi Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Diyarbakır

<sup>2</sup>Menemen Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir



İletişim / Corresponding Author : Nezire Mine TURHANOĞLU

Diyarbakır Eğitim Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Kliniği 21100 Diyarbakır - Türkiye  
Tel : +90 532 256 55 47 E-posta / E-mail : mineturhanoglu@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 20.04.2017  
Kabul Tarihi / Accepted : 16.02.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.56338

Turhanoglu MN, Koyuncu E, Bayindir-Bilman F. Yara kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik dirençleri 2010-2015. Turk Hij Den Biyol Derg, 2018; 75(2): 183-194

%3,2 ile fusidik asite karşı olduğu belirlenmiştir. Gram negatif bakterilerin direnç durumları irdelendiğinde en yüksek direncin *Acinetobacter* türlerinde %100 ile ampisilin/sulbaktam, sefoksitin, sefiksim, sefuroksim ve sefuroksim aksetile; *E. coli*'de %93,7 ile ampisiline; *Klebsiella* türlerinde %83,3 ile piperasiline; *P. aeruginosa*'da %100 ile ampisilin/sulbaktama karşı olduğu saptanmıştır. En düşük direnç oranları ise *E. coli*'de %2,8 ile meropenem *Klebsiella* türlerinde %14,2 ile sefoksitine, *P. aeruginosa*'da %19,1 ile gentamisine karşı belirlenmiş; *Acinetobacter* türlerinde ise trimetoprim/sülfametoksazol ve tetrasikline karşı direnç gözlenmemiştir.

**Sonuç:** Bu çalışmada, hastanemizde yara yeri enfeksiyonlarına en sık neden olan mikroorganizmaların dağılımı ve antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiş, ülkemizde ve yurt dışında yapılan çalışmaların verileriyle karşılaştırılmış, benzerlik ve farklılıklar ortaya konulmuştur. İzole edilen mikroorganizmaların ve antibiyotik duyarlılıklarının bilinmesi, hem ampirik tedavilere yön verebilmek, hekimlerin kontrollü ve akılcı antibiyotik kullanımı konusunda bilinçlenmesini sağlamak, hem de direnç oranlarındaki artışın önüne geçebilmek açısından önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** antibiyotik, direnç, yara

was found in *S. aureus* to be 81.4% to penicillin and 3.2% to fucidic acid. When the resistance status of Gram negative bacteria was studied, it was found out that the highest resistance was 100% to ampicillin/sulbactam, cefoxitine, cefixime, cefuroxime and cefuroksime axetile in *Acinetobacter*, 93.7% ampicillin in *E. coli*, 83.3% to piperacillin in *Klebsiella* species, and 100% to ampicillin/sulbactam in *P. aeruginosa*, on the other hand, the lowest resistance was 2.8% to meropenem in *E. coli*, 14.2% to sefoksitin in *Klebsiella* species, 19.1% to gentamycin in *P. aeruginosa*, and no resistance developed to trimethoprim/sulfamethoxazole and tetracycline in *Acinetobacter* species.

**Conclusion:** In this study, the distribution antibiotic susceptibility of microorganisms most frequently causing wound infections were determined in our hospital, the data were compared and contrasted to those of the studies made in our country and abroad, and similarities and differences were disclosed. Knowing isolated microorganisms and their susceptibility to antibiotics is of importance in terms of directing empiric treatments, enabling doctors to be conscious of controlled and rational usage of antibiotics, and preventing the increase in resistance rates.

**Key Words:** antibiotic, resistance, wound

## GİRİŞ

Yara enfeksiyonları, yaranın iyileşmesini geciktirmekte ve kronikleşmeye doğru gelişim göstermesinde önemli bir rol oynamaktadır. Yara kolonizasyonu çoğunlukla polimikrobiyal olduğu için her yaranın enfekte olma riski bulunmaktadır (1). Farklı mikroorganizma toplulukları, özellikle yaranın kenarları ve kronik yaralara kolonize olmaktadır (2). Enfeksiyon hastalıklarının önemi, sık görülmelerinin yanı sıra hastalık nedeni olan mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı sürekli direnç geliştirmelerinden ileri gelmektedir (3).

Çalışmamızda, yara yeri örneklerinden izole ettiğimiz mikroorganizmaların dağılım oranları ve antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiş, ampirik tedavi seçeneklerine yol gösterici olması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Hastanemizde, 01.01.2010 ile 01.01.2015 tarihleri arasında değişik kliniklerde yatan ya da ayaktan tedavi gören hastaların yara kültürlerinden üretilen mikroorganizmalar ve çeşitli antibiyotiklere direnç



durumları kayıtlardan değerlendirilmiştir. Yaradan alınan sürüntü, sıvı ya da doku örneklerinin hepsine yayma hazırlanarak Gram boyama sonrası direkt mikroskopik inceleme yapılmıştır.

Gram boyalı preparatlarda, lökosit görülmesine karşın yassı epitel hücresi az sayıda olan veya mevcut olmayanlar ya da steril bölgeden alınmış örnekler değerlendirmeye alınmıştır. Ayrıca, örneklerden %5 Kanlı Agar, Eozin Methylene Blue (EMB) agar, Çikolata Agar ve Sabouraud Dekstroza Agar (SDA) besiyerlerine ekim yapılarak, 37°C'de 48 saat bekletilmiştir. Üreyen koloniler VITEK version 2.0 (bioMérieux, Fransa) sistemi kullanılarak tanımlanmış ve antimikrobiyal duyarlılıkları belirlenmiştir. VITEK version 2.0 kullanılmadığı durumlarda gerektiğinde, Gram pozitif bakteriler için katalaz, koagülaz, PYR (pyrolidonly-beta naphilamide) testleri, Gram negatifler için ise oksidaz testi ve biyokimyasal testler (TSI Agar, Simmon's Sitrat Agar, Christensen Üre Agar, hareket besiyeri ve indol), mayalar için germ tüp gibi manuel yöntemlerden yararlanılmıştır.

## BULGULAR

Örneklerin rehberlere uygun şekilde kontaminasyon olmadan alınmasına dikkat edilmiştir. Ayrıca yara örneklerinden yapılan Gram boyamada, lökosit sayısının epitel sayısından fazla olması ve KNS üreyen örnekler için tüm yaymalarda, Gram pozitif kokların görülmesi KNS izole edilen yara kültürlerinde bu bakterilerin olası enfeksiyon etkeni olduğunu düşündürmüştür.

Toplam 913 örneğin 147'sinin cilt florası ile kontamine, 73'ünün miks üreme olduğu tespit edilmiş ve 220 örnek çalışma dışı tutularak, toplam 693 izolat çalışmaya alınmıştır. Buna göre üreyen mikroorganizmaların %52,5 (364)'ünü Gram pozitif koklar, %42,9 (297)'sini Gram negatif basiller ve %4,6 (32)'sini mantarlar oluşturmuştur.

Üreyen Gram pozitif bakterilerin dağılımları Tablo 1'de verilmiştir. En sık görülen Gram pozitif bakteriler stafilkokok türleri olmuş ve %41,4 ile *S. aureus* en sık üreyen bakteri olmuştur.

**Tablo 1.** Hastanemizde 2010-2015 yılları arasında yara kültürlerinden üretilen Gram pozitif bakterilerin dağılımı

| Mikroorganizma grubu | n   | %     | Mikroorganizma  | n   |
|----------------------|-----|-------|---|-----|
| Stafilokoklar        | 321 | 88,2  | <i>S. aureus</i>  | 133 |
|                      |     |       | <i>S. epidermidis</i>                                       | 82  |
|                      |     |       | <i>S. haemolyticus</i>                                      | 45  |
|                      |     |       | <i>S. hominis</i>   | 11  |
|                      |     |       | <i>S. capitis</i>   | 7   |
|                      |     |       | <i>S. chromogenes</i>                                       | 6   |
|                      |     |       | <i>S. lugdunensis</i>                                       | 5   |
|                      |     |       | <i>S. intermedius</i>                                       | 4   |
|                      |     |       | <i>S. warneri</i>   | 3   |
|                      |     |       | <i>S. simulans</i>  | 3   |
|                      |     |       | <i>S. lentus</i>  | 3   |
|                      |     |       | <i>S. sciuri</i>  | 2   |
|                      |     |       | <i>S. pseudintermedius</i>                                  | 2   |
|                      |     |       | KNS, tanımlanmayan  | 15  |
| <i>Kocuria</i> spp.  | 21  | 5,8   | <i>K. rosea</i>   | 2   |
|                      |     |       | <i>K. kristinae</i>   | 19  |
| Enterokoklar         | 13  | 3,6   | <i>E. faecalis</i>  | 9   |
|                      |     |       | <i>E. faecium</i>   | 4   |
| Streptokoklar        | 4   | 1,1   | <i>S. agalactiae</i>  | 2   |
|                      |     |       | <i>S. pneumoniae</i>  | 2   |
| Gram pozitif kok     | 5   | 1,4   | <i>Dermaococcus nishinomiyaensis/Kytococcus sedentarius</i> | 2   |
|                      |     |       | <i>Leuconostoc mesenteroides cremoris</i>                   | 2   |
|                      |     |       | <i>Gemella morbillorum</i>                                  | 1   |
| Tüm Gram pozitifler  | 364 | 100,0 |   |     |

Yara kültürlerinde üreyen 297 Gram negatif bakterinin %64,7'sini enterikler, %30,6'sını nonfermentatifler oluşturmuş, %4,7'si ise tanımlanamamıştır (Tablo 2).

Üreyen mantarların hepsinin maya mantarı olduğu gözlenmiş, üreyen mantarların yarısını *Candida albicans* oluşturmuştur (Tablo 3).

Mikroorganizmaların antibiyotiklere direnç oranları orta duyarlı ve dirençli olarak incelenmiştir. Gram pozitif bakterilerden stafilokokların antimikrobiyal direnç durumları Tablo 4'te özetlenmiştir. Stafilokoklarda metisilin direnci *S.*

*aureus* için %35,8 iken, koagülaz negatif stafilokoklar için %71,1 olarak bulunmuştur. Gram negatif bakterilerin direnç durumu ise Tablo 5'te verilmiştir.

*E. coli*'de %93,7 ile ampisiline, %83,3 ile sefazoline, *Klebsiella*'da %83,3 ile piperasiline ve %81,8 ile sefepime, *P. aeruginosa*'da, %100 ile ampisilin/sulbaktam, %97,8 ile trimetoprim/sulfametoksazole *Acinetobacter*'lerde ise %100 ile ampisilin/sulbaktam, sefoksitin, sefiksım, sefuroksım ve sefuroksımaksetile %95,4 ile meropeneme ve %86,9 ile imipeneme en yüksek direncin geliştiği gözlenmiştir (Tablo5).

Tablo 2. Hastanemizde 2010-2015 yılları arasında üretilen Gram negatif bakterilerin dağılımı

| Mikroorganizma grubu              | Sayı | Yüzde                     | Cins                                | Sayı | Tür                       | Sayı              |
|-----------------------------------|------|---------------------------|-------------------------------------|------|---------------------------|-------------------|
| Enterobacteriaceae                | 192  | 64,7                      | <i>Escherichia coli</i>             | 91   | <i>E. coli</i>            | 91                |
|                                   |      |                           | <i>Klebsiella</i> spp.              | 38   | <i>K. pneumonia</i>       | 35                |
|                                   |      |                           |                                     |      |                           | <i>K. oxytoca</i> |
|                                   |      |                           | <i>Enterobacter cloacae</i> complex | 34   | <i>E. cloacae</i> complex | 34                |
|                                   |      |                           | <i>Citrobacter</i> spp.             | 3    | <i>C. freundii</i>        | 2                 |
|                                   |      |                           |                                     |      | <i>C. braakii</i>         | 1                 |
|                                   |      |                           | <i>Serratia</i> spp.                | 8    | <i>S. marcescens</i>      | 5                 |
|                                   |      |                           |                                     |      | <i>S. liquefaciens</i>    | 2                 |
|                                   |      |                           |                                     |      | <i>S. fonticola</i>       | 1                 |
|                                   |      |                           | Diğer                               | 18   | <i>Proteus mirabilis</i>  | 8                 |
| <i>Morganella morganii</i>        | 7    |                           |                                     |      |                           |                   |
| <i>Providencia stuartii</i>       | 2    |                           |                                     |      |                           |                   |
| <i>Salmonella enterica</i>        | 1    |                           |                                     |      |                           |                   |
| Nonfermenterler                   | 91   | 30,6                      | <i>Pseudomonas</i> spp.             | 54   | <i>P. aeruginosa</i>      | 52                |
|                                   |      |                           |                                     |      | <i>P. fluorescens</i>     | 1                 |
|                                   |      |                           |                                     |      | <i>P. putida</i>          | 1                 |
|                                   |      |                           | <i>Acinetobacter</i> spp.           | 30   | <i>A. baumannii</i>       | 27                |
|                                   |      |                           |                                     |      | <i>A. haemolyticus</i>    | 3                 |
|                                   |      |                           | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | 2    | <i>S. maltophilia</i>     | 2                 |
|                                   |      |                           | <i>Sphingomonas paucimobilis</i>    | 2    | <i>S. paucimobilis</i>    | 2                 |
|                                   |      |                           | <i>Moraxella</i> grup               | 1    | <i>Moraxella</i> grup     | 1                 |
| <i>Burkholderia cepacia</i>       | 1    | <i>B. cepacia</i>         | 1                                   |      |                           |                   |
| <i>Raoultella ornithinolytica</i> | 1    | <i>R. ornithinolytica</i> | 1                                   |      |                           |                   |
| Tanımlanamayan                    | 14   | 4,7                       | Tanımlanamayan                      | 14   |                           |                   |
| Toplam GN                         | 297  | 100                       |                                     | 297  |                           | 297               |

GN: Gram Negatif

**Tablo 3.** Hastanemizde 2010-2015 yılları arasında yara kültürlerinden üretilen mantarların dağılımı

| Cins                | n  | %     | Tür                    | n  | %    |
|---------------------|----|-------|------------------------|----|------|
| <i>Candida</i> ssp. | 29 | 90,6  | <i>C. albicans</i>     | 16 | 50,0 |
|                     |    |       | <i>C. glabrata</i>     | 3  | 9,4  |
|                     |    |       | <i>C. lusitaniae</i>   | 2  | 6,3  |
|                     |    |       | <i>C. parapsilosis</i> | 2  | 6,3  |
|                     |    |       | <i>C. ciferrii</i>     | 2  | 6,3  |
|                     |    |       | <i>C. famata</i>       | 1  | 3,1  |
|                     |    |       | <i>C. krusei</i>       | 1  | 3,1  |
|                     |    |       | <i>C. tropicalis</i>   | 1  | 3,1  |
|                     |    |       | <i>C. kefyr</i>        | 1  | 3,1  |
| Maya                | 3  | 9,4   |                        |    |      |
| Tüm mantarlar       | 32 | 100,0 |                        |    |      |

**Tablo 4.** Hastanemizde 2010-2015 yılları arasında yarada üretilen *S. aureus* ve KNS antibiyotiklere direnç oranları

| Antibiyotikler              | <i>Staphylococcus aureus</i>        |            | KNS                                 |            |
|-----------------------------|-------------------------------------|------------|-------------------------------------|------------|
|                             | Duyarlılık çalışılan suş sayısı (n) | Direnç (%) | Duyarlılık çalışılan suş sayısı (n) | Direnç (%) |
| Siprofloksasin              | 130                                 | 15,1       | 131                                 | 45,0       |
| Gentamisin                  | 125                                 | 12,8       | 131                                 | 41,2       |
| Rifampin                    | 131                                 | 17,5       | 138                                 | 35,5       |
| Trimetoprim/Sülfametoksazol | 123                                 | 3,5        | 138                                 | 27,0       |
| Penisilin                   | 132                                 | 81,4       | 132                                 | 69,7       |
| Oksasilin                   | 132                                 | 35,8       | 140                                 | 71,1       |
| Fusidik asit                | 125                                 | 3,2        | 168                                 | 37,5       |
| Eritromisin                 | 129                                 | 24,4       | 133                                 | 75,1       |
| Moksfloksasin               | 124                                 | 16,9       | 141                                 | 26,9       |
| Fosfomisin                  | 125                                 | 11,6       | 168                                 | 45,8       |
| Tetrasiklin                 | 121                                 | 31,2       | 134                                 | 58,2       |
| Tigesiklin                  | 132                                 | 0          | 156                                 | 0          |
| Linezolid                   | 125                                 | 0          | 166                                 | 0          |
| Teikoplanin                 | 125                                 | 0          | 166                                 | 0          |
| Vankomisin                  | 125                                 | 0          | 161                                 | 0          |

Tablo 5. Hastanemizde 2010-2015 yılları arasında yarada üretilen Gram negatif bakterilerin antibiyotiklere direnç oranları

| Antibiyotikler                  | <i>Klebsiella</i> spp.              |            | <i>Acinetobacter</i> spp.           |            | <i>Escherichia coli</i>             |            | <i>Pseudomonas</i> spp.             |            |
|---------------------------------|-------------------------------------|------------|-------------------------------------|------------|-------------------------------------|------------|-------------------------------------|------------|
|                                 | Duyarlılık çalışılan suş sayısı (n) | Direnç (%) | Duyarlılık çalışılan suş sayısı (n) | Direnç (%) | Duyarlılık çalışılan suş sayısı (n) | Direnç (%) | Duyarlılık çalışılan suş sayısı (n) | Direnç (%) |
| Siprofloksasin                  | 28                                  | 39,2       | 18                                  | 83,3       | 78                                  | 30,7       | 45                                  | 33,3       |
| Gentamisin                      | 35                                  | 42,8       | 23                                  | 65,2       | 70                                  | 27,5       | 47                                  | 19,1       |
| Meropenem                       | 35                                  | 17,1       | 22                                  | 95,4       | 69                                  | 2,8        | 47                                  | 42,5       |
| İmipenem                        | 35                                  | 22,8       | 23                                  | 86,9       | 68                                  | 2,9        | 47                                  | 40,4       |
| Ertapenem                       | 15                                  | 20,0       | -                                   | -          | 32                                  | 12,5       | -                                   | -          |
| Seftriakson                     | 24                                  | 79,1       | -                                   | -          | 78                                  | 38,4       | -                                   | -          |
| Sefepime                        | 22                                  | 81,8       | -                                   | -          | -                                   | -          | 19                                  | 26,3       |
| Seftazidim                      | 35                                  | 74,2       | -                                   | -          | -                                   | -          | 48                                  | 29,1       |
| Sefoksitin                      | 28                                  | 14,2       | 22                                  | 100        | 47                                  | 27,6       | 34                                  | 91,7       |
| Sefuroksim                      | 24                                  | 75         | 22                                  | 100        | 48                                  | 66,6       | 34                                  | 94,1       |
| Sefuroksim aksetil              | 24                                  | 75         | 22                                  | 100        | 48                                  | 66,6       | 34                                  | 94,1       |
| Amikasin                        | 38                                  | 10,5       | -                                   | -          | 82                                  | 13,4       | 49                                  | 28,5       |
| Ampisilin                       | -                                   | -          | -                                   | -          | 48                                  | 93,7       | -                                   | -          |
| Piperasilin                     | 12                                  | 83,3       | -                                   | -          | 23                                  | 82,6       | -                                   | -          |
| Sefksim                         | 14                                  | 64,2       | 19                                  | 100        | 41                                  | 65,8       | 30                                  | 93,3       |
| Trimetoprim/<br>Sülfametoksazol | 34                                  | 61,7       | 4                                   | 0          | 55                                  | 41,8       | 47                                  | 97,8       |
| Tazobaktam/Piperasilin          | 36                                  | 47,2       | -                                   | -          | 33                                  | 36,3       | 49                                  | 46,6       |
| Amoksisilin/Klavulanik asit     | 24                                  | 58,3       | -                                   | -          | 48                                  | 62,5       | -                                   | -          |
| Ampisilin /Sulbaktam            | -                                   | -          | 21                                  | 100        | 21                                  | 57,1       | 12                                  | 100        |
| Sefoperazone/<br>Sulbaktam      | 27                                  | 75,0       | 17                                  | 64,7       | 50                                  | 18         | 42                                  | 26,1       |
| Sefazolin                       | 9                                   | 77,7       | -                                   | -          | 6                                   | 83,3       | -                                   | -          |
| Levofloksasin                   | 20                                  | 45,0       | 10                                  | 90,0       | 40                                  | 25         | 19                                  | 42,1       |
| Netilmisin                      | 12                                  | 66,6       | -                                   | -          | 35                                  | 34,2       | -                                   | -          |
| Tetrasiklin                     | 13                                  | 53,8       | 2                                   | 0          | 16                                  | 18,7       | -                                   | -          |
| Tigesiklin                      | 13                                  | 15,3       | 2                                   | 0          | 15                                  | 0          | -                                   | -          |
| Netilmisin                      | 13                                  | 23,0       | 2                                   | 50,0       | -                                   | -          | 15                                  | 20         |
| Linezolid                       | 35                                  | 42,8       | -                                   | -          | 70                                  | 27,1       | -                                   | -          |

## TARTIŞMA

Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, klinik tablo ve enfeksiyonu oluşturan mikroorganizmalar bakımından oldukça çeşitlilik gösterirler. Yara yeri enfeksiyonların tedavisi sırasında kültür ve antibiyogram değerlendirmeleri, klinisyenin yara tedavisindeki başarısına destek olacağı gibi antibiyotik kullanımının kontrolüyle dirençli bakterilerin yayılmasını da engelleyecektir. Bu nedenle belirti zaman aralıklarında, sık görülen enfeksiyon etkenleri ve bunların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi, ampirik tedavilere ışık tutması açısından önemlidir (3).

Yurt içinde yapılan çalışmalar incelendiğinde; Afyonkarahisar'da 1.754 yara örneğinin %30'unda izole edilen bakterinin %71'ini Gram negatif, %21,2'sini Gram pozitif ve %7,8'ini fungal etkenler, İzmir'de 2.175 yara yeri örneğinden izole edilen %51,8 etkenin %78,2'sini Gram negatif, %21,8'ini Gram pozitif bakteriler oluşmuştur (4, 5). Malatya'da 257 yara materyalinin %37'sinde üreme olup, %75 Gram negatif, %25 Gram pozitif bakteri dağılımı olduğu gösterilmiştir (6). Cirit ve ark. (7), toplam 4.447 yara örneğinden izole edilen 1.093 bakterinin; %61,9'unda Gram negatif, %38,1'inde Gram pozitif, Doğan ve ark. (3), 525 etkenin %80,2'sini Gram negatif, %19,8'ini Gram pozitif olarak belirlemiş, Gündem ve Çıkman (1) ise 153 yara yeri örneğinin %46,4'ünde üreme saptamış, bu etkenlerin %32,4'ünü Gram negatif, %67,6'sını Gram pozitif bakteriler olarak tespit etmişlerdir. Zer ve ark. (8), 234 yara sürüntüsünün %69,6'sında, Özmen ve ark. (9), 188 yara örneğinin %21'inde, Adalati ve ark. (10), 1.169 yara yeri örneğinin %66,3'ünde üreme saptamışlardır.

Çalışmamızda, üretilen mikroorganizmaların %52,5 (364)'ünü Gram pozitif, %42,8 (297)'sini Gram negatif bakteriler ve %4,61 (32)'sini mantarlar oluşturmuştur. Konuyla ilgili çalışmalar incelendiğinde, Gram negatif ve Gram pozitif bakteri dağılımlarının bölgelere göre yüzdelik oranlarının farklı olduğu gözlemlenmiştir.

Yara kültürlerinden üretilen mikroorganizmaların dağılımlarına bakıldığında, Cirit ve ark. (7), izole ettikleri bakterilerin %20,9'unu KNS, %19,5'ini *E. coli*, %13,7'sini *S. aureus*, %12,8'ini ile *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*, %11,4'ünü diğer enterik bakteriler olarak belirlemişlerdir. Doğan ve ark. (3), en fazla izole edilen bakteriyi %28,5 ile *E. coli*, %15,6 ile *E. aerogenes*, %14,8 ile *S. aureus*, %14 ile *P. aeruginosa*, %7,1 ile *A. baumannii*, %5,8 ile *K. pneumoniae*, %4,2 ile *E. cloacae*, %1,7 ile *S. epidermidis*; Bayram ve ark. (11), %23,6 ile *A. baumannii*, %12 ile *P. aeruginosa*, %11,2 ile *S. aureus*, %10 ile *E. coli* olarak belirlemişlerdir. Yurtsever ve ark. (5), izolatlarının %26,8'ini *E. coli*, %18,3'ünü *P. aeruginosa*, %18'ini *S. aureus*, %11,6'sını *A. baumannii*, %8,9'unu *K. pneumoniae*, %2,7'sini *Enterococcus* spp., %12,3'ünü *Enterobacteriaceae* suşları ve %1,1'ini KNS olarak saptamışlardır.

Sesli ve ark. (12), 721 yara örneğinde en sık izole edilen bakterileri sırasıyla *S. aureus* %29,1, KNS %24, *E. coli* %11,3, *Enterococcus* spp. %6,7, *P. aeruginosa* %5,9 ve *A. baumannii* %5,6, Karadağ ve ark. (13), 621 suştan %20,1'ini *E. coli*, %17,3'ünü *P. aeruginosa*, %12'sini *S. aureus*, %10,1'ini *A. baumannii*, %9,6'sını *Klebsiella* spp., %6,7'sini *Enterococcus* spp. olarak belirlemişlerdir. Güriz ve ark. (14) ise 1.295 yara örneğinde, %28,2 *S. aureus*, %16 *S. epidermidis*, %11,7 *P. aeruginosa* ve %9 *E. coli* olarak saptamıştır. Yurtsever ve ark. (5), tarafından yapılan çalışmada, yara kültürlerinde ilk sırayı %26,8 ile *E. coli* alırken, bunu %18,3 ile *P. aeruginosa*, %18 ile *S. aureus*, %11,6 ile *A. baumannii*, %8,9 ile *K. pneumoniae*, %2,7 ile *Enterococcus* spp., %12,3 ile diğer *Enterobacteriaceae* suşları ve %1,1 ile de KNS izlemiştir. Adalati ve ark. (10), en fazla üretilen mikroorganizmaları sırasıyla *S. aureus*, *Pseudomonas* spp. ve *E. coli* olarak belirlemişlerdir.

Erzincan'dan yapılan bir çalışmada, kültürlerden soyutlanan etkenler arasında *S. aureus* %32,4 oranıyla ilk sırayı alırken; KNS %25,3, *E. coli* %11,3, *Klebsiella* spp. %9,9, *P. aeruginosa* %7 ve *Acinetobacter* spp.

%4,2 oranlarında bulunmuştur (1). Zer ve ark. (8) 234 yara sürüntüsü örneklerinin %31,2'sinden *S. aureus*, %18,4'ünden KNS ve %12'sinden *E. coli* izole edildiğini bildirmişlerdir.

Malatya'daki çalışmada, üretilen mikroorgaizmaların, %16'sı *S. aureus*, %8'i KNS, %10'u *E. coli* ve *Klebsiella* spp., %20'si *P. aeruginosa*, %4'ü *Enterobacter* spp., %25'i *Acinetobacter* spp., olarak tanımlanmıştır (6). Afyonkarahisar'da en sık rastlanan etkenlerin *E. coli* %39,8, *S. aureus* %11,9, *A. baumannii* %9,1, *P. aeruginosa* %7,5, *Candida* spp. %7,8, *E. cloacae* %7,1, *K. pneumoniae* %6,1, KNS %2,4 olduğu gözlenmiştir (4). Kahramanmaraş'ta ise ilk sırayı *E. coli* %28,5 ile alırken, bunu *E. aerogenes* %15,6, *S. aureus* %14,8 ve *P. aeruginosa* %14 oranı ile izlemiştir (3). Nonfermenter bakterilerin izole edildiği 1.834 örneğin çalışıldığı bir araştırmada da *A. baumannii* %71,7 oranlarında izole edilmiştir (15).

Meksika'da yapılmış benzer bir çalışmada ise %21,8 *E. coli*, %13 KNS, %12,6 *Pseudomonas* spp., %9,2 *S. aureus*, İsviçre'de %14 *E. coli*, %12 *P. aeruginosa*, %21 *S. aureus*, %5 *K. pneumoniae*, %3,2 *Acinetobacter* ssp. izole edilmiştir (16, 17). Mulu (18), nazokomiyal cerrahi yara enfeksiyonlarında %21,4 *E. coli* ve KNS, %26,2 *S. aureus*, Wong (19), cerrahi yara enfeksiyonlarında %39 *S. aureus*, %24 koliform basil ve %21 *P. aeruginosa* saptamışlardır. Bessa ve ark. (20), 217 yara kültüründe %37 *S. aureus*, %17 *P. aeruginosa* ve %6 *E. coli* bulmuşlardır.

Altı yıllık dönemdeki retrospektif çalışmamızda, üreyen mikroorganizmalar içinde KNS %58,5, *S. aureus* %41,4, *Pseudomonas* %18,2, *E. coli* %13,1, *Klebsiella* spp. %5,48, *Enterobacter cloacae* complex %4,9, *Acinetobacter* ssp. %4,3, olarak belirlenmiştir. Maya mantarı %0,4, *Candida* ssp. %4,1 oranlarında dağılım göstermişlerdir. Yara enfeksiyonuna neden olan ajanlar arasında ilk sırayı *E. coli* ve stafilokok'ların aldığı gözlenmiştir.

Yaradan izole edilen stafilokok izolatlarında farklı çalışmalarda, metisilin direnci araştırıldığında ise *S. aureus*'ta ve KNS'de metisilin direncini sırasıyla,

Gündem ve Çıkman (1), %21,8, %33,3, Doğan ve ark. (3), %18,3, %54,5, Yurtsever ve ark. (5), % 29, %50, Görmeli ve ark. (6), %7, %50, Cirit ve ark. (7), %27,3, %54,6, İris ve ark. (21), %33,3, %19,7, Özcan ve ark. (22), %38, %53 oranlarında bulmuşlardır.

Afyonkarahisar'daki bir yoğun bakımdan izole edilen *S. aureus* ve KNS suşlarının tümünde metisilin direnci gözlenmiştir (4). Guggenheim ve ark. (17), *S. aureus*'ta metisilin direncinin 1986-1997'de %3, 1998-2001'de %16, 2002-2005'te %13 olduğunu, KNS'de ise metisilin direncinin *S. aureus*'a göre daha da arttığını gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda, *S. aureus* suşlarının %35,8'inde ve KNS suşlarının %71,1'inde metisilin direnci bulunmuştur. Direnç oranlarımız diğer çalışmalara göre oldukça yüksek olmakla birlikte *S. aureus*'ta İris ve ark. (21) ve Özcan ve ark. (22) tarafından belirlenen orana yakın bulunmuştur.

Vankomisin direnci incelendiğinde, Gündem ve Çıkman (1), Doğan ve ark. (3), Aşık ve ark. (4), Bessa ve ark. (20) tarafından yapılan çalışmalarda, vankomisin ve teikoplanin direnci tespit edilmemiştir. Çalışmamızda vankomisin direnci KNS'de ve *S. aureus*'ta belirlenmemiştir.

*S. aureus*'ta ve KNS'de antibiyotik dirençlerine bakıldığında, sırasıyla Karadağ ve ark. (13), penisiline %94,6-97,2, eritromisine %17,3-64,8, siprofloksasine %14,6-40,5, gentamisine %10,6-21,6 ve rifampisine %10,6-13,5 oranlarında direnç bulmuşlardır (17). Çalışmamızda, *S. aureus* ve KNS'de sırasıyla penisiline %81,4-%9,7, rifampisine %17,5-35,5, oksasiline %35,8-71,1, siprofloksasine %15,1-45, eritromisine %24,4-75,1, gentamisine %12,8-41,2 oranlarında direnç bulunmuştur.

Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) pozitifliği çalışmalarda, Cirit ve ark. (7), GSBL yapma oranlarını, 2010, 2011 ve 2012 yıllarında sırasıyla *E. coli* izolatlarında %61, %62 ve %68, *K. pneumoniae* izolatlarında %40, %37 ve %40, diğer enterik bakteriler de ise %8,7 ve %16 olarak belirlemiştir. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda,

Ağca (23), yara yeri örneklerinde, *E. coli* ve *Klebsiella* spp. suşları için sırasıyla %11,3 ve %33,3, Gündem ve Çıkman (1), %50 ve %28,6, Aşık ve ark. (4), her ikisinde %72,4, Görmeli ve ark. (6), *K. pneumoniae* suşlarında %40 oranlarında GSBL pozitifliği bulmuşlardır. Eryılmaz (2), çeşitli klinik örneklerden üretilen 114 *E. coli* suşunun 21'inin GSBL pozitif olduğu, yedisinin yara örneklerinden izole edildiğini bildirmiştir (2). Çalışmamızda, GSBL pozitifliği *K. pneumoniae*'de %72,2, *E. coli*'de %63,3 ile yüksek oranlarda bulunmuştur. *E. coli* suşlarında GSBL üretiminin artışı oldukça ciddi bir problemdir ve bu mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek antibiyotikler oldukça kısıtlıdır (13).

Üretilen bakterilerin antibiyotik dirençlerine bakıldığında, Düzce'deki çalışmada imipenem direnci %2 olarak belirlenmiş olup; *E. coli*, *Enterobacter* spp., *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. ve *Klebsiella* spp. suşlarında birinci yıl imipenem direnci saptanmazken, ikinci yıl *Enterobacter* spp.'de %2, *Acinetobacter* spp., %5, *Klebsiella* spp.'de %2, *P. aeruginosa*'da %6 oranında direncin geliştiği ancak *E. coli*'de ikinci yıl imipenem direncine rastlanmadığı belirtilmiştir (9). Aşık ve ark. (4), *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* suşlarında karbapenem direncini sırasıyla %27,1 ve %68,9 olarak tespit etmişlerdir. Görmeli ve ark. (6), *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında imipenem direncinin olmadığını ve *Acinetobacter* spp.'de imipenem direncinin %92'lerde bulunduğunu bildirmiştir. Çetinkaya ve ark. (24), *Klebsiella*'da imipenem direncini %1 olarak saptamış ancak meropenem direncin gelişmediğini belirtmişlerdir.

Karadağ ve ark. (13), *E. coli*, *Klebsiella* ssp. ve *Enterobacter* suşlarında imipenem ve meropenem direncine rastlamamış, ancak *P. aeruginosa* suşlarında imipenem ve meropenem direncini sırasıyla %20,3-18,5, *A. baumannii* suşlarında ise her iki antibiyotik için %79,3, oranlarında gözlemlenmişlerdir. Cirit ve ark. (7), üç yıllık bir çalışmada, imipenem ve meropenem direncini

yıllara göre sırasıyla *Pseudomonas*'larda %18-53-20, %6-24-18, *Acinetobacter*'de %93-94-73, %72-79-45, *K. pneumoniae*'de imipenem %6-6-14, *E. coli*'de imipenem %5-1-4 oranlarında bulunmuştur. Hoşaf ve ark. (25), *Pseudomonas* suşlarında imipenem meropenem direncini sırasıyla %6-20 olarak belirlemişlerdir. Doğan ve ark. (3), *Pseudomonas*'da imipenem direnci %31, *Acinetobacter*'de %80, *K. pneumoniae*'da %3, *E. coli* 'de %2, Görmeli ve ark. (6), *A. baumannii*'de imipenem direncini %92 olarak saptamıştır.

Çalışmamızda, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* ve *E. coli* suşlarında sırasıyla meropenem direnci %17,1, %95,4, %42,5 ve %2,8, imipenem direnci %22,8, %86,9, %40,4, %2,9 ertapenem direnci ise *Klebsiella*'da %20, *E. coli*'de %12,5 olarak tespit edilmiştir.

Siprofloksasin direncini Karadağ ve ark. (13), *Pseudomonas*'da %16,6, *Acinetobacter*'de %82,5, *Klebsiella* ssp.'de %10, *E. coli* 'de %50,4, Görmeli ve ark. (6), *Pseudomonas*'da %5, *Acinetobacter*'de %89, *K. pneumoniae*'de %10, *E. coli*'de %19, Hoşaf ve ark. (25), *Pseudomonas*'da %13 oranlarında belirlerken, çalışmamızda *E. coli* için %30,7, *Acinetobacter* için %83,3, *K. pneumoniae* için %39,2, *Pseudomonas* için %33,3 olarak bulunmuştur.

Amikasin direncini Cirit ve ark. (7)'nin üç yıllık çalışmasında, *Pseudomonas*'da %10-42-22, *Acinetobacter*'de %51-47-68, *K. pneumoniae*'da %9-12-14, *E. coli*'de %13-11-13, Özmen ve ark. (9)'nin iki yıllık çalışmasında, *E. coli*'de %18-16, *Enterobacter*'de %21-19, *P. aeruginosa*'da %13-13 ve *Klebsiella* spp.'de %29-22 olarak saptanırken, Hoşaf ve ark. (25), *Pseudomonas*'da %26, Doğan ve ark. (3), *A. baumannii*'de %89, *P. aeruginosa*'da %13, *E. coli*'de %33, *K. pneumoniae*'da %41 oranlarında bulmuşlardır. Görmeli ve ark. (6), çalışmalarında, *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *Pseudomonas*'da amikasin direnci saptamazken, *Acinetobacter*'de direnci %83 olarak belirlemişlerdir. Hastanemizde amikasin direnci *E. coli* için %13,4, *Acinetobacter* için %25,

*K. pneumoniae* için %10,5, *Pseudomonas* için %28,5 olarak belirlenmiştir.

Gentamisin direncini Görmeli ve ark. (6), *Pseudomonas*'da %5, *Acinetobacter*'de %92, *K. pneumoniae*'da %30, *E. coli*'de %20, Karadağ ve ark. (13), *Pseudomonas*'da %15,7, *Acinetobacter*'de %63,4, *Klebsiella* spp. %6,6, *E. coli* %36, Doğan ve ark. (3), *P. aeruginosa*'da %14, *A. baumannii*'de %93, *K. pneumoniae*'da %32, *E. coli*'de %39 oranlarında bulmuşlardır. Çalışmamızda ise *E. coli*'de %27,5, *K. pneumoniae*'de %42,8, *Acinetobacter*'de %65,2, *Pseudomonas*'da %19,1 ve *Acinetobacter*'de ise %65,2 oranlarında bulunmuştur.

Çalışmamızda, seftazidim direncini *Klebsiella*'da %74,2 *Pseudomonas*'da %29,1 oranlarında bulurken Hoşaf ve ark. (25), *Pseudomonas*'da %52, Görmeli ve ark. (6), *Pseudomonas*'da %5, *Acinetobacter*'de %75, *K. pneumoniae*'da %40, *E. coli* %20, Doğan ve ark. (3), *A. baumannii*'de %89, *P. aeruginosa*'da %36, *E. coli*'de %61, *K. pneumoniae*'da %46 olarak belirlemişlerdir. Cirit ve ark. (7), yaptıkları üç yıllık çalışmasında, *Pseudomonas*'larda %13-42-34, *Acinetobacter*'de %57-82-73, *E. coli*'de %30-43-25, Özmen ve ark. (9), ise *E. coli* için %58-55,

*Enterobacter* için %71-68, *P. aeruginosa* için, %60-72 ve *Klebsiella* spp. için %59-61 oranlarında direnç bulmuşlardır. Çalışmalara bakıldığında özellikle son dönemlerde, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* izolatlarında karbapenem direncinde artış olduğu dikkati çekmiştir.

## SONUÇ

Son yıllarda enfeksiyon etkeni olan mikroorganizmaların dağılım oranları, antibiyotiklere artan oranlarda direnç geliştirebildikleri göz önüne alındığında, her merkezin belirli zaman aralıklarında kendi enfeksiyon etkenlerinin dağılımını ve antimikrobiyal ajanlara duyarlılık durumlarını gösteren düzenli sörveyans çalışmalarına ihtiyacı vardır. Böylece ampirik tedavilere yön verilebilecek ve hekimlerin kontrollü ve akılcı antibiyotik kullanımı konusunda bilinçlenmesi sağlayarak, hem direnç oranlarındaki artışın önüne geçilebilecek hem de toplam tedavi maliyetinin düşürülmesine katkı sağlayabilecektir. Bu durum hekimin yara tedavisindeki başarısını etkileyecek ve dirençli bakterilerin yayılması da engellenmiş olacaktır (3).



## KAYNAKLAR

1. Gündem N.S, Çıkman A.Yara kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM, 2012;26(4):165-70.
2. Eryılmaz M, Bozkurt ME, Yıldız MM, Akın A. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz suşlarının araştırılması. Marmara Eczacılık Derg, 2010;14:10-2.
3. Doğan SŞ, Paköz NİE, Aral M. Laboratuvarımıza gönderilen yara yeri örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotiklere direnç durumları. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 2010;40(4):243-9.
4. Aşık G, Özoğuz P, Tünay H, Bulut A, Kaçar S, Bal A. Yara kültürlerinden izole edilen etkenler ve antibiyotik direnç profilleri. Cerrahi Sanatlar Dergi, 2014; (1):17-1.
5. Yurtsever S. G, Kurultay N, Çeken N, Yurtsever Ş, Afşar İ Şener, A.G, Yılmaz N.Yara yeri örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. ANKEM, 2009;23(1):34-8.
6. Görmeli G, Duman Y, Karakaplan M, Korkmaz MF, Tekerekoğlu MS, Selçuk EB, Aslantürk O. Orthopedic Surgical wound infection: microorganisms and resistance figures/ ortopedik cerrahi yara enfeksiyonları: mikroorganizmaların direncine ilişkin veriler. J Turgut Ozal Med Cent, 2015;22(1):13-7.
7. Cirit OS, Müderris T, Mızraklı AU, Vurupalmaz Y, Barış A. Yara kültürlerinden izole edilen aerop bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 2014; 44(4):149-57.
8. Zer Y, Korkmaz G, Çeliksöz C, Bayram A, Orhan G, Balcı İ. Yara örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. Anadolu Tıp Derg, 2002;4:76-80.
9. Özmen E, Geyik F.M, Uluğ M, Çelen M.K, Hoşoğlu S, Ayaz C. Yatan hastalardan izole edilen Gram negatif bakteriler ve antibiyotik dirençlerinin değerlendirilmesi. Düzce Tıp Derg, 2010;12(3):32-9.
10. Adalati R, Yılboz DN, Akalın N. Hastanede yatan hastaların yara yeri örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 2002;32:35-9.
11. Bayram Y, Parlak M, Aypak C, Bayram İ. Three-year review of bacteriological profile and antibiogram of burn wound isolates in Van, Turkey. Int J Med Sci, 2013;10(1):19-23.
12. Sesli ÇE, Kaya S, Taflı T, Cicioğlu AB, Demirci M. Cerrahi alan enfeksiyonlarında mikroorganizma profili ve antibiyotik duyarlılık durumu. ANKEM Derg, 2006;20:89-93.
13. Karadağ A, Gür D, Ünal N, Keleş Uludağ S, Güney AK, Günaydın M. Yara yeri örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların dağılımı ve antibiyotik duyarlılıklarının retrospektif olarak incelenmesi. Türk J Clin Lab, 2013;4(1):76-80.
14. Güriz H, Çiftçi E, Gökdemir R, Aysev D. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Cebeci Hastanesi'ndeki yara kültürlerinin değerlendirilmesi. Ankara Üniv Tıp Fak Mec, 2001;54:231-5.
15. Hazırolan G, Altan G, Baran I, Mumcuoğlu İ, Aksu N. Bir eğitim ve araştırma hastanesinde yatan hastalardan izole edilen nonfermentatif Gram negatif basillerin dağılımı ve direnç profilleri. ANKEM Derg, 2015;29(2):66-2.
16. Vilar-Compte D, Mohar A, Sandoval S, Rosa M, Gordillo P, Volkow P. Surgical site infections at the national cancer institute in Mexico. A case control study. Am J Infect Control, 2000; 28(1):14-20.
17. Guggenheim M, Zbinden R, Handschin AE, GohritzA, Altintas MA, Giovanoli P. Changes in bacterial isolates from burn wounds and their antibiograms: a 20-year study (1986-2005). Burns, 2009;35(4):553-60.
18. Mulu W, Kibru G, Beyene G, Damtie M. Postoperative nosocomial infections and antimicrobial resistance pattern of bacteria isolates among patients admitted at Felege Hiwot Referral Hospital, Bahirdar, Ethiopia. Ethiop J Health Sci, 2012;22(1):7-18.

19. Wong ES. The price of a surgical site infection: more than just excess length of stay. *Infect Control Hospital Epidemiol*, 1999;20:722-25.
20. Bessa LJ, Fazio P, Giulio DM, Cellini L. Bacterial isolates from infected wounds and their antibiotic susceptibility pattern: some remarks about wound infection. *Int Wound J*, 2013; doi: 10.1111/iwj.12049.
21. İris NE, Arat ME, Yıldırım T, Sayiner HS, Varol B, Erkmen T. Klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli stafilokok suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları. XIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Mart, 14-18, 2007, Belek -Antalya. 2007
22. Özcan N, Durmaz ÇB, Oktar M. Yara örneklerinden izole edilen stafilokok suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranlarının araştırılması, XI. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi 30 Mart-3 Nisan, İstanbul. 2007.
23. Ağca H. Escherichia coli ve Klebsiella pneumoniae suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretileri ve antibiyotik duyarlılık oranları. *Dokuz Eylül Üniv Tıp Fak Derg*, 2011;25(3):169-73.
24. Çetinkaya Z, Çiftçi İH, Aktepe OC, Şafak B, Altındış M. Klinik örneklerden izole edilen Klebsiella izolatlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. *ANKEM Derg*, 2005;19(1):1-4.
25. Hoşaf E, Çalıcı A, Durmaz Çetin B, Seber E. Yara, abse ve akıntı örneklerinden elde edilen Pseudomonas aeruginosa suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2001;31(1-2):37-40.

## Kuaför salonlarındaki kimyasallara mesleki maruziyet ve sağlık riski

### Occupational exposure to the chemicals in hairdressing salons and health risk

Ayça AKTAŞ-ŞÜKÜROĞLU, Sema BURGAZ<sup>1</sup>

#### ÖZET

Kozmetik ürünlerinin yapımında, 5.000'in üstünde kimyasal kullanımı söz konusudur. Kuaförlük mesleği çalışanları, başlıca saç ürünleri ve yanı sıra tırnak ve cilt bakımında kullanılan çok sayıda kozmetik ürüne mesleki olarak maruz kalmaktadır. Bu ürünlerin mesleki olarak kullanımı esnasında başlıca deri ve solunum yolu ile çok sayıda tahriş edici (irritan), alerjik ve karsinojenik potansiyeli olan kimyasallara (örn; amino nitro fenoller, hidrojen peroksit, para-fenilendiamin, orto ve meta-toluidin, N-nitrozodietanolamin, etanol, aseton, toluen, ksilen, amonyak, terpenler, metilizotiyazolinon, rezorsinol, hidrokinon, metilmetakrilat, tiyoglikolik asit ve formaldehit gibi) maruziyet söz konusu olup, bu mesleki maruziyetlerin kişisel maruziyetlere göre çok daha fazla ve uzun süreli olduğu bilinmektedir. Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu (IARC)'nın yaptığı değerlendirmede, kuaförlük ya da berberlik mesleği, mesane kanseri risk verileri esas alındığında Grup 2A' da (insanda muhtemelen karsinojenik) yer almaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, bazı saç boyası ve saç şekillendirici ürünlerde insan karsinojeni (Grup 1) olarak sınıflandırılan orto-toluidin kimyasalının tespit edilmesi ve yanı sıra saç düzleştirme çözeltileri içerisinde bulunan formaldehit'in (Grup 1) çalışma ortamında izin verilen limitlerin çok

#### ABSTRACT

More than 5000 chemicals are used in cosmetic products. Hairdressers have been occupationally exposed to a great number of products involving mainly hair as well as nail and skin care products. Professionals using these products have been exposed to a number of chemicals (e.g. aminonitrophenols, hydrogen peroxide, para-phenylenediamine, ortho- and meta toluidine, N-nitrosodiethanolamine, ethanol, acetone, toluene, xylene, ammonia, terpenes, methylisothiazolinone, resorcinol, hydroquinone, methyl metacrylate, thioglycolic acid and formaldehyde, etc.) which are irritant, allergic and potential carcinogenic through primarily dermal and inhalation routes and these occupational exposures have known to be much higher and long term than individual ones. Occupational exposures as a hairdresser or barber are probably carcinogenic to humans (Group 2A) to the International Agency for Research on Cancer (IARC) evaluation based on bladder cancer risk data. Recent studies have indicated that ortho-toluidine classified as a human carcinogen (Group 1) has been found in some of hair dyes and hair conditioner products, furthermore, formaldehyde (Group 1) used in hair straightener

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Sema BURGAZ

Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, F. Toksikoloji Ana Bilim Dalı, Hipodrom, Ankara - Türkiye  
Tel : +90 535 323 06 75 E-posta / E-mail : sema.burgaz@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 19.07.2017  
Kabul Tarihi / Accepted : 16.02.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.36539

Aktaş-Şüküroğlu A, Burgaz S. Kuaför salonlarındaki kimyasallara mesleki maruziyet ve sağlık riski. Türk Hij Den Biyol Derg, 2018; 75(2): 195-212

üstünde bulunduğu ortaya konulmuştur. Bunun yanı sıra diğer bazı kozmetik ürün içeriklerinin oksidatif stres ve DNA hasar göstergelerinde, düzensizliklere neden olduğu deneysel sistemlerde gösterilmektedir. Bu nedenle, bu tip kozmetik ürünleri profesyonel olarak kullanan bireylerin sağlık risklerinin değerlendirilmesi daha önemli hale gelmektedir. Ülkemizde yaklaşık 160.000 bireyin kuaförlük mesleğinde olduğu ve bu bireylerin mesleki olarak yüzlerce kimyasal etkene potansiyel maruziyetlerinin söz konusu olduğu düşünülmektedir. Ancak ülkemizde bu meslek grubunun çeşitli kimyasallara maruziyetlerinin ve buna bağlı lokal ve sistemik toksik etkilerin değerlendirildiği, geniş kapsamlı çalışmalar bulunmamaktadır. Gerek araştırmacıların ve gerekse meslek mensuplarının bu konudaki farkındalıklarının artması gerekmektedir. Bu derlemede, kuaförlük mesleğinde çalışanların potansiyel olarak maruz kaldığı kimyasallar tanımlanarak, özellikle insan karsinojeni olarak sınıflandırılmış kimyasalların (orto-toluidin ve formaldehit) lokal ve sistemik toksik etkileri, ulusal ve uluslararası yasal düzenlemelerdeki durumu ve mesleki maruziyet ile ilişkili sağlık risklerine dikkat çekilmiş ve diğer bazı kozmetik ürün içeriklerinin toksik etkileri hakkında bilgi verilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** kimyasallar, mesleki maruziyet, kuaförler, sağlık riski

products leads to the unacceptable high levels in working air. It has been experimentally shown that other cosmetic ingredients may cause an oxidative stress and irregularities in DNA damage parameters. Therefore, it has been more meaningful to evaluate the health risks of professionals using above mentioned cosmetic products. It has been suggested that there have been about 160.000 hair dressers in our country and that they have potential exposures to more than hundreds of chemicals. Nonetheless, there have been no detailed study on occupational exposure to specific chemicals, and their local and systemic toxic effects in hair dressers in our country. Thus, it is necessary to increase the awareness of both researchers and professionals on this issue. In this review, chemical exposures among hairdressers and local and systemic toxic effects of those chemicals especially classified as human carcinogens (ortho-toluidine and formaldehyde) have been introduced, their status in the national and international regulations and occupational health risks are highlighted and toxic effects of other cosmetic ingredients have also been discussed.

**Key Words:** chemicals, occupational exposure, hairdressers, health risk

## GİRİŞ

Kadın ve erkek kuaförlüğü ve güzellik uzmanlığı alanında çalışan kişi sayısının Amerika'da yaklaşık 660.000 olduğu ve 2026'ya kadar %10 artacağı, Avrupa'da ise bir milyondan fazla kişinin 400.000 salonda çalıştığı bilinmektedir (1, 2). Türkiye'de ise esnaf ve sanatkârlar odasının 2014'de yayınladığı raporda kadın ve erkek kuaförü işyeri sayısının 80.250 olduğu belirtilmiştir (3).

Güzellik ürünlerinin yapımında 5.000'den fazla çeşitli kimyasal kullanıldığı bilinmektedir. Kuaförlerin kullandığı ürünler, başlıca saç preparatları (saç rengini açıcılar, kalıcı ve yarı-kalıcı saç boyaları, saç temizleyici ve şekillendiriciler, perma ve saç düzeltme ürünleri gibi) ve yanı sıra tırnak ve cilt bakımında kullanılan preparatlardır. Bu ürünlerin mesleki olarak kullanımı esnasında başlıca deri ve solunum

yolu ile çok sayıda tahriş edici (irritan), alerjik ve karsinogenik potansiyeli olan kimyasallara (örn; amino nitro fenoller, hidrojen peroksit, para-fenilendiamin, orto- ve meta-toluidin, N-nitrozodietanolamin, etanol, aseton, toluen, ksilen, amonyak, terpenler, metilzotiyazolinon, rezorsinol, hidrokinon, metilmetakrilat, tiyoglikolik asit, nikel tuzları, formaldehit) maruziyet söz konusu olup, bu mesleki maruziyetlerin kişisel maruziyetlere göre çok daha fazla ve uzun süreli olduğu bilinmektedir (4-6).

Fransa'daki Ulusal Mesleki Astım İzleme Merkezi tarafından derlenen bilgilere göre kuaförlük mesleğinin her iki cinsiyetinde de oluşan mesleki astım sıklığı dördüncü sırada yer almakta; raporların %6,8'si ise kadınlardan oluşmaktadır (7). İngiltere'de Sağlık ve Güvenlik Dairesi, 2005 yılında mesleki deri hastalıklarındaki en yüksek sıklığın kuaförlerde olduğunu bildirmiştir (8). Esin ve ark. (9), ülkemizde 15-21 yaşları arasında kuaförlerde çalışan genç bireylerde benzer yaştaki diğer meslek çalışanlarına göre daha fazla deri ve solunum sistemi şikâyetleri olduğunu belirtmişlerdir.

Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu (IARC)'in yaptığı değerlendirmede, kuaförlük mesleği, mesane kanseri risk verileri esas alındığında Grup 2A' da (insanda muhtemelen karsinogenik) yer almaktadır (10). Kuaförlerin mesane kanser riskindeki artışta, saç boyalarında bulunan aromatik amin yapısındaki kimyasallara maruziyetlerinin rolü olduğu düşünülmektedir.

Öte yandan kalıcı özellikte saç boyası (oksidatif saç boyaları, yarı-kalıcı saç boyaları) ile saçını boyatan bireylerde (özellikle 1980 yılından önce kullananlarda) mesane kanseri, hodgkin dışı lenfoma ve lösemi sıklığı arasında ilişki olduğu düşünülmektedir (11). Ancak IARC, kalıcı saç boyalarının bireysel kullanımını insandaki kanser riski açısından Grup 3 (insandaki karsinogenik etki açısından sınıflandırılmayan) de değerlendirmektedir (10).

1970'li yıllardaki ticari saç boyası formülasyonlarının %89'u mutajenik özellikte aromatik amin yapısında kimyasalları içermektedir. Bu nedenle, bu yıllardan sonra saç boyası formülasyonlarından bu yapıdaki kimyasallar çıkartılmıştır. Kuaförlerde ve saçını boyatan bireylerde, mesane kanser riski konusunda yapılan pek çok çalışmada gözlenen artmış kanser riskinin halen kullanılmakta olan yeni saç boyaları formülasyonlarına maruziyet ile ilişkili olmayacağı öne sürülmüştür. Avrupa Birliği düzenlemelerinde kozmetik ürünlerin içerisinde toluidinler, izomerleri, tuzları ve halojenli ve sülfonlu türevlerinin bulunması yasaklanmıştır (12). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda, Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Türkiye ve İsveç'te satılan saç boyası ve perma ürünlerinde yasaklanmış olan aromatik amin yapısındaki kimyasalların (4-aminobifenil, orto- ve meta-toluidin gibi) bulunduğu tespit edilmiştir (13-15). Saç boyalarında yer alan o-toluidinin IARC sınıflandırmasında, Grup 1' de (insan karsinojeni) yer aldığı bilinmektedir (10). Bunun yanı sıra Brezilya fönü olarak da bilinen keratin esaslı saç düzleştirme preparatları ile çeşitli ülkelerde ve ABD'de yapılan uygulamalarda, çalışma ortamına yüksek konsantrasyonlarda formaldehitin salındığı gösterilmiştir (16-18). Formaldehitin karsinogenik açıdan Grup 1 (insan karsinojeni)'de olmasının yanı sıra göz ve solunum yollarında iritasyon ve üreme sisteminde de problemlere neden olduğu bilinmektedir (19).

Bu nedenle, kuaför meslek grubundaki bireylerin maruz kaldığı kimyasal etkenlerin kontrolü ve sağlık risklerinin değerlendirilmesi konusunda toplumsal sağlık kurumlarının sorumluluğu bulunmaktadır. Bu derlemede, kuaförlük mesleğinde, çalışanların maruz kaldığı kimyasallar tanımlanarak, özellikle insan karsinojeni olarak sınıflandırılmış kimyasalların lokal ve sistemik toksik etkileri, yasal düzenlemelerdeki durumu ve mesleki maruziyet ile ilişkili sağlık risklerinin irdelenmesi amaçlanmıştır. Kuaförlük mesleği çalışanlarının biyolojik ve fiziksel etkenlere maruziyet açısından sağlık riskleri bu derlemenin kapsamına alınmamıştır.

### Kuaförlük mesleğinde çalışanların maruz kaldığı kimyasal etkenler

Kuaförlerin günlük olarak maruz kaldığı çok sayıdaki kimyasal dermal, inhalasyon ve ağız yolu ile absorbe olarak vücuda alınmaktadır. Saçla ilgili uygulamalarda; saç boyamada kullanılan boyalar, renk değişiklikleri için saç rengi açıcılar ve saç şekillendiriciler yer almaktadır ve bu kimyasallar uygulanan ve uygulayan bireyler için potansiyel sağlık riskleri içermektedir (Tablo 1).

### Kuaförlük mesleği çalışanlarında yapılan epidemiyolojik çalışmalar

Kuaförlerde mesane kanser sıklığı pek çok epidemiyolojik çalışma ile incelenmiştir. Ancak bu çalışmalarda yer alan denek sayısının azlığı ve bu

nedenle sonuçların istatistiksel gücü konusunda kısıtlılıklar bulunmaktadır. İzmir Berberler ve Kuaför Ticaret Anonim Şirketi'ne kayıtlı 300 kuaför ve güzellik salonunda yer alan 1.284 kişi (işyeri sahibi, mağaza ustası, asistan ve çıraklar) ile 2006 yılında yapılan ankete dayalı bir araştırmada, günlük kozmetik ürün kullanımının oldukça yüksek olduğu ve çalışanların %76'nının günde en az bir kere saç boyası, %43'ünün ise perma materyali kullandığı belirtilmiştir. Çalışmaya katılanların %35'inin en az bir alerjik şikâyeti olduğu ve bunun yanı sıra çalışanların iş yerlerinde kimyasallara maruz kalmalarını azaltacak tedbirleri kullanmadığı ortaya konmuştur (22). 2009 yılında 247 kuaförde yapılan meta-analiz çalışmasında, saç boyaları içindeki pek çok kimyasala potansiyel maruziyeti olan kuaförlerde kanser riski araştırılmış ve genel popülasyona göre kuaförlerin daha yüksek kanser

**Tablo 1.** Kuaförlerin günlük maruz kaldıkları bazı kimyasallar, bulunduğu ürünler ve toksik etkileri (20, 21)

| Kimyasal Madde     | Kozmetik Ürün                             | Lokal/Sistemik Toksikite           |
|--------------------|---|------------------------------------|
| Etanol             | Saç spreyleri, solüsyonlar                | Deri, göz ve inhalasyon irritanı   |
| İzopropil alkol    | Solüsyonlar                               | Göz irritanı                       |
| Amonyum per sülfat | Saç şekillendirme                         | İrritan                            |
| Toluendiamin       | Saç boyası                                | İrritan, deney hayvanı karsinojeni |
| p-fenilendiamin    | Saç boyası                                | İrritan, alerjik                   |
| Hidrojen peroksit  | Saç boyası, şampuanlar, saç şekillendirme | Deri, göz irritanı                 |
| Bizmut sitrat      | Saç boyası                                | Göz irritanı                       |
| Tiyoglikolikasit   | Saç düzleştirme ve kıvrıma                | İrritan, nazal hipersensitivite    |
| Formaldehit        | Saç düzleştirme, şampuanlar               | İnsan karsinojeni                  |
| Persülfat tuzları  | Saç ağartma                               | İrritan, nazal hipersensitivite    |
| o-toluidin         | Saç boyası                                | İnsan karsinojeni                  |
| Rezorsinol         | Saç boyası                                | İrritan                            |

riski (özellikle de akciğer, gırtlak kanseri, mesane kanseri ve multipl miyelom) taşıdığı belirlenmiş, kuaför salonlarında havalandırma sistemlerinin ve hijyenik önlemlerin alınması gerekliliği böylece de iş ortamında potansiyel karsinogenlere maruziyetin etkisinin azaltılabileceği sonucuna ulaşılmıştır (23). 2010 yılında yapılan vaka-kontrol tipi bir çalışmada ise metal işçilerinin, berberlerin, kuaförlerin ve tır şoförlerinin akciğer kanseri riskinin oldukça yüksek olduğu belirtilmiştir (24). Kuaförlerde mesane kanseri sıklığına ilişkin 42 çalışmanın değerlendirildiği diğer bir meta-analiz çalışmasında, özellikle on yıldan fazla çalışan kuaförlerde mesane kanser riskinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı ortaya konmuştur. Ancak mesane kanserinin uzun bir latent dönemi olması ve 1980'den sonra saç boyaları içeriğindeki bazı aromatik aminlerin kullanımının yasaklanması nedeniyle, 1980'den önce ya da sonra çalışanlar için mesane kanser riskinin benzer olup olmadığı konusunun tartışmalı olduğu ifade edilmektedir (25). 2014 yılında bir çalışmada ise kuaförlerin, kendileri ile aynı ücretleri kazanan başka çalışanlara göre genel sağlık koşullarının daha düşük olduğuna dikkat çekilmiştir (21).

### **Kuaförlük mesleği çalışanlarında genetik biyogöstergeler ile yapılan çalışmalar**

1997 yılında Türkiye'de yapılan bir çalışmada, oksidatif saç boyaları ile her gün boyama işlemi yapan 15 erkek kuaförün kan örneklerinde genotoksik hasar göstergelerinden kardeş kromatid değişiklikleri (SCE) ve Comet testi uygulanmış, idrar örneklerinde de mutajenik aktivitenin olup olmadığı Ames testi ile araştırılmıştır. Az sayıda denek ile yapılan bu çalışmada, incelenen hasar göstergelerinin mesleki maruziyet ile değişmediğini ortaya koymuşlardır (26). Türkiye'de kuaför ve kozmetik üretim yerinde çalışan bireylerde yapılan diğer bir çalışmada ise 39 bireyin kan örneklerinde mikroçekirdek yöntemi ile olası genotoksik hasar değerlendirilmesi yapılmış, ancak mesleki maruziyete bağlı genotoksik hasar

tespit edilememiştir (27). 2008 yılında Brezilyalı kuaförlerde yapılan çalışmada, kan örneklerinde Comet testi ile genotoksisite riski değerlendirilmiş ve kuaförlerde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha yüksek sıklıkta DNA hasarı tespit edilmiştir. Bu hasarın kuaförlerin çalışma ortamındaki farklı kimyasallara kronik olarak maruz kalmaları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (28). 2010 yılında, kuaförlerde yapılan diğer bir çalışmada ise kuaförlerin yanak epitel hücrelerinde genotoksisite maruziyet göstergesi olarak ölçülen mikroçekirdek ve diğer çekirdek anomali sıklıklarının arttığı ve bu artışın çalışma süresince maruz kalınan kimyasallardan kaynaklanabileceği düşünülmüştür (29). 2016 yılında, 295 kuaför ve 92 kuaför olmayan kadın üzerinde yapılan çalışmada, kanser ile ilişkili diğer DNA göstergelerinden biri olan telomer boyunun, kuaförlerin ve özellikle saç perması yapan genç çalışanların kan örneklerinde kuaför olmayanlara oranla daha kısa olduğunu, bunun da bir genotoksik etkiyi ortaya koyduğu belirtilmiştir. Ayrıca bu çalışmada, spesifik genlerin DNA metilasyonunda bazı değişiklikler gözlenmesine rağmen saç boyası kimyasallarının epigenetik etkileri için daha fazla çalışma yapılması gerektiği belirtilmiştir (30). Türkiye'de Aydın ilinde faaliyet gösteren 20 kişilik bir kuaför grubunun oral epitel hücrelerinde yapılan çalışmada, mikroçekirdek ve diğer çekirdek anomali sıklıklarında artışlar görüldüğü ve bu nedenle genotoksik maruziyet riskinin arttığı belirtilmiştir(31).

### **Kuaförlük mesleği çalışanlarının kimyasal etkenlere maruziyetinin belirlenmesine ilişkin çalışmalar**

Mesleki Güvenlik ve Sağlık Kurumu (OSHA), 2010 yılında yedi kuaför salonunda "formaldehit içermez" etiketli ürünleri kullanan kuaförlerin iş yeri ortamını incelemiş ve bulunan formaldehit miktarlarının Ulusal Mesleki Sağlık ve Güvenlik Enstitüsü (NIOSH) ve Ulusal Endüstriyel Hijyenistler Konferansı-ABD (ACGIH) limit değerlerini çok aşan miktarlarda olduğu gösterilmiştir (15).

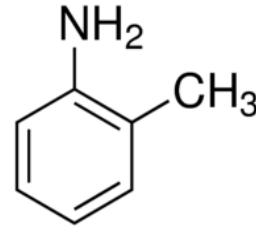
2010 yılında yapılan diğer bir çalışmada, kuaförlerdeki uçucu organik çözücü miktarları, ozon ve karbondioksit miktarları yüksek çıkarken, formaldehit miktarları teşhis limitinin altında bulunmuştur (32). “Brezilya fönü” (Brezilya Keratin Treatment-BKT) olarak adlandırılan dalgalı ve kıvrıkcık saçların aylarca uzun sürelerde düz kalmasını sağlayan bir uygulamada kullanılan ürünlerin çok yüksek konsantrasyonlarda formaldehit içerdiği saptanmış ve 2012 yılında Güney Afrika’da piyasaya sürülmüş tüm bu BKT markalarının formaldehit konsantrasyonları yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yardımıyla incelenmiştir. Yapılan analizler sonucunda, BKT ürünlerindeki formaldehit seviyelerinin kabul edilebilir seviye sınırının (%0,2) üzerinde olduğu ve sağlık açısından tehlike teşkil edebileceği sonucuna ulaşılmıştır (16). 2013 yılında yapılan çalışmada ise ürünlerdeki formaldehit miktarı 120 mg/mL, iş yeri ortamındaki formaldehit miktarı ise 0,1 ppm’den az olarak bulunmuştur (33). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda, ABD, Türkiye ve İsveç’te satılan saç boyası ve perma ürünlerinde yasaklanmış olan aromatik amin yapısındaki kimyasalların (4-aminobifenil, orto- ve meta-toluidin gibi) bulunduğu tespit edilmiştir (13-15).

Maruz kalınan kimyasal ürünlere ek olarak; kuaför ve güzellik merkezlerinde maruz kalınan uçucu organik bileşiklerin (VOC) konsantrasyonları da önemlidir. Mesleki maruziyete sebep olabilecek uçucu organik bileşiklerden bazıları izopropil asetat, etanol, aseton, metil ve etil metakrilat, n-butil asetat, etil asetat, 2-butan, 2-propanol, heksametil disiloksan, toluen ve ksilen olarak sıralanabilir. 2015 yılında Polonya’da yapılan bir çalışmada, 145 kadın manikürcünün çalışma ortamlarında başta etil alkol, 2-propanol ve etil asetat olmak üzere çok sayıda VOC bileşiğinin (toluen, metil metakrilat, etil metakrilat, izopropil asetat gibi) bulunduğu ve bu uçucu organik bileşiklerin düzeylerinin genelde yasal limitleri aşmadığı gösterilmiştir (34).

## Kuaförlük mesleğinde çalışanların potansiyel maruziyeti olan karsinojenik kimyasallar

### *o*-Toluidin

*o*-Toluidin, monosiklik aromatik amin, arilamin veya alkilamin olarak sınıflandırılabilen sentetik bir kimyasaldır (Şekil 1). *o*-Toluidin 90’dan fazla boya ve pigmentlerin üretiminde (boya maddeleri, azo pigment boyalar, triarilmetan boyalar, sülfür boyalar ve indigo bileşikleri gibi), büyük molekül ağırlıklı yabancı ot ilaçları, metolaklor, asetoklor, sentetik kauçuk, böcek ilaçları gibi birçok kimyasalın sentezinde ara ürün olarak kullanılmaktadır. Ayrıca *o*-toluidin, klinik laboratuvarlarında doku boyama ve glikoz analizinde bir ajan olarak kullanılmaktadır (10, 35).



Şekil 1. *o*-Toluidinin kimyasal formülü

### Maruziyet

*o*-Toluidin, üretimi sırasında üreticilerde ya da dokuların boyanması sırasında laboratuvar ve sağlık personelinde mesleki maruziyete bağlı olarak rahatsızlıklar oluşturabilir. Ayrıca son zamanlarda saç boyalarının *o*-toluidin içerdiğinin ortaya çıkarılması nedeniyle kuaförler de büyük risk altındadır. NIOSH’ın araştırmasına göre 1981-1983 yılları arasında yaklaşık 15.500’ü kadın olmak üzere 30.000 işçi, potansiyel olarak *o*-toluidine maruz kalmıştır. *o*-Toluidine mesleki olmayan maruz kalma seviyesi, mesleki maruziyet seviyesine göre daha düşüktür. *o*-Toluidinin mesleki olmayan potansiyel maruziyet kaynakları arasında



sigara içilmesi, lokal anestezide yaygın kullanımı olan prilokain, tüketici ürünleri (ör. saç boyaları, kıyafet ve kozmetikteki boya maddeleri), gıda maddeleri ve çevre yer almaktadır (35). Türkiye’de yapılan tarama çalışmasında, piyasada satılan 54 kalıcı saç boyasının 34’ünde 88,05 ug/g varan konsantrasyonlarda; 35 doğal veya modifiye kına örneğinin 17’si ve 15 boyalı saç numunesi gaz-kütle spektrometresi (GC-MS) yöntemi ile analiz edilmiş, satılan ürünlerde 1547 ug/g’a varan konsantrasyonda karsinogenik aromatik amin yapısındaki *o*-toluidin tespit edilmiştir (14). Ayrıca 2015 yılında yapılan çalışmada, sigara içmeyen 295 kadın kuaför, 32 saç boyası kullanıcısı ve 60 kontrol grubu bireyden kan örnekleri alınarak orto-, meta(m)- ve para(p)-toluidin; 2-,3- ve 4-etilanilin, 2,3- ve 3,4-dimetilanilin miktarları ölçülmüş ve her üç grupta da *o*-toluidin düzeylerinin en yüksek değerde olduğu saptanmıştır (15).

### ***o*-Toluidinin metabolizması**

Inhalasyon, dermal ve oral maruziyetten sonra *o*-toluidin absorpsiyonu gerçekleşebilir. *o*-Toluidinin; dokulara dağılımı, metabolizması ve atılımı öncelikle kemiricilerde incelenmiş ve kan, dalak, karaciğer, böbrek ve mesane gibi dokularında *o*-toluidin tespit edilmiştir. Sıçanlarda, maruz kalınan *o*-toluidinin major olarak idrar yolu ile; daha düşük miktarlarının ise dışkı ve nefes yolu ile atıldığı tespit edilmiştir. *o*-Toluidinin insan metabolizmasına ilişkin verileri sınırlı olsa da, sıçanlarda gözlenen N-asetil-*o*-toluidinin metabolitinin insanlarda da gözleneceği kabul edilmektedir (35, 36).

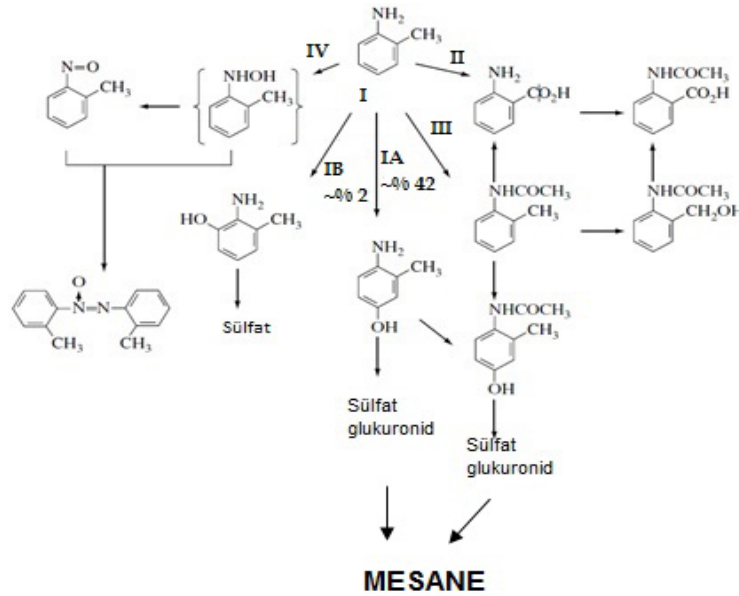
*o*-Toluidinin kanserojenik etki mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Ancak, reaktif metabolitlerin DNA ve proteinlere bağlanarak; mutajenite, oksidatif DNA hasarı, kromozomal hasar ve sitotoksiste gibi etkilere yol açtığı konusunda veriler bulunmaktadır.

Sıçanlarda *o*-toluidinin major metabolik yolağı, N-hidroksilasyon (yolak I) ve N-asetilasyon ile gerçekleşmektedir (yolak II) (Şekil 2).

*o*-Toluidin, karaciğerde sitokrom P450 aracılığıyla karsinogenik metabolit olan N-hidroksi-*o*-toluidine dönüşmektedir (yolak IA). Oluşan N-hidroksi-*o*-toluidin, *o*-nitroztoluene metabolize olabilir ya da glukuronik asit ve sülfat konjugatları şeklinde mesaneye ulaşmaktadır. N-hidroksi-*o*-toluidin, mesaneye ulaştıktan sonra konjugatlardan serbest hale geçerek ya da sülfasyon/asetilasyon yolağı ile biyolojik olarak aktif hale gelerek DNA ile reaksiyona girebilmektedir. Sıçanlarda mesane kanserine sebep olan hemoglobin katım ürünün; *o*-toluidinin metaboliti olan *o*-nitroztoluenden oluştuğu düşünülmektedir. Aromatik aminler için diğer aktivasyon yolları, peroksidazların yer aldığı reaksiyonlar olup, idrar torbasında reaktif metabolitlerin oluşmasını sağlar. Bu metabolitler de reaktif oksijen türlerini üreterek oksidatif hücre hasarına neden olmaktadır (35, 36).

### **Deneyisel sistemlerde *o*-toluidin ile yapılmış çalışmalar**

*o*-Toluidinin, metabolik aktivasyon basamağı ve genotoksisite basamakları hayvan deneyleri ile gösterilmektedir. Sıçanlarda yapılan çalışmalarda, *o*-toluidin-hemoglobin katım ürününün oluştuğu gösterilmiştir (37). 6-8 haftalık, Swiss CD-1, B6C3F1 farelerine *o*-toluidinin hidroklorür tuzları oral yolla verilerek yapılan karsinogenesis çalışmaları, hem dişi hem de erkek farelerde hemanjiyom ve hemanjiyosarkom sıklığının arttığı ortaya konmuştur (38). Dişi ve erkek sıçanlarda, 52 hafta boyunca deri altı *o*-toluidin uygulamasına bağlı olarak ortaya çıkan tümör sıklığının kontrol gruplarına oranla arttığı bulunmuştur (10). Sonuç olarak elde edilen veriler *o*-toluidinin DNA ve kromozomal hasara, hücre transformasyonuna sebep olduğunu ortaya koymaktadır. *o*-Toluidin bakterilerde zayıf bir mutajen olmasına rağmen insan lenfositlerinde mutasyona neden olduğu belirlenmiştir. *o*-Toluidinin metaboliti, N-hidroksi-*o*-toluidin ve *o*-nitroztoluenin de bakteri ve memelilerde potansiyel mutajenik etki gösterdiği tespit edilmiştir (35). 2002’de yapılan çalışmaya göre



Şekil 2. Sıçanlarda *o*-(metil-<sup>14</sup>C)-toluidin hidroklorür metabolizması (35)

serbest oksijen türlerinin *o*-toluidin toksisitesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (39).

### ***o*-Toluidin maruziyetine ilişkin epidemiyolojik çalışmalar**

Epidemiyolojik çalışmalar, insanlardaki *o*-toluidin maruziyeti ile mesane kanseri arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bu sonuç, boya işçileri ile yapılan üç kohort çalışmaya, kauçuk üretiminde çalışan işçiler ile yapılan iki kohort çalışmaya ve nüfusa dayalı bir vaka-kontrol çalışmasına bağlı olarak ortaya çıkarılmıştır (10, 35). 2000 ve 2008 yıllarında İngiltere’de bir kimya fabrikasında yapılan çalışmalara göre *o*-toluidine maruz kalan çalışanların mesane kanseri riskinin arttığı ve diğer kimyasallara oranla *o*-toluidin üretilen kısımda artan riskin daha fazla olduğu bulunmuştur (40, 41). Baş boyun cerrahi işleminde lokal anestetik olarak prilokain uygulanan hastaların kan örneklerinde hemoglobin katım ürünlerinin cerrahi işlemden 24 saat sonra yaklaşık 41 kat arttığı tespit edilmiştir (42).

2014 yılında yapılan diğer çalışmada, *o*-toluidin içeren ortamlarda çalışanların mesane kanseri riskinin arttığı doğrulanmıştır (43). Johansson ve ark. (15), kuaförler ve bireysel saç boyası kullanıcılarında yaptıkları çalışmada, saç boyaları ve saç şekillendiricilerde bulunan meta- ve *o*-toluidin maruziyetine bağlı olarak kan örneklerinde hemoglobin (Hb)-katım ürünlerinin konstrasyonlarında bir artış olduğunu göstermişlerdir. Yapılan çalışmada, *o*-toluidine maruz kalan kuaförlerin %57’sinde Hb katım ürününün 18 pg/g olduğu, bireysel saç boyası kullanıcılarınının %7’sinde Hb katım ürününün 7 pg/g olduğu bulunmuştur. Hb’nin DNA katım ürünleri maruziyet biyogöstergesi olduğu için elde edilen sonuçlar *o*-toluidin maruziyeti için önemlidir.

### ***o*-Toluidin ile ilgili yasal düzenlemeler**

*o*-Toluidin ile ilgili yasal düzenlemelerde yer alan hususlar Tablo 2’de belirtilmiştir.

**Tablo 2.** o-Toluidin ile ilgili yasal düzenlemelere göre mesleki maruziyet limitleri (9).

| AMERİKA  |   |
|--|---|
| İş Sağlığı ve Güvenliği Ajansı (OSHA)                | PEL <sup>*</sup> = 5 ppm<br>Dermal absorpsiyon için potansiyel  |
| Endüstriyel Hijyen Amerikan Resmi Konferansı (ACGIH) | TLV-TWA <sup>**</sup> = 2 ppm<br>Dermal absorpsiyon için potansiyel   |
| Meslek Güvenliği ve Sağlığı Yasası (NIOSH)           | IDLH <sup>***</sup> = 50 ppm<br>Dermal absorpsiyon için potansiyel mesleki karsinojen olarak sınıflandırılmıştır.   |
| AVRUPA   |   |
| Direktif 97/56/EC                                    | o-toluidin içeren ürünlerin etiketlenmesi ve bu etiketin okunur olması gerektiği sunulmuştur  |
| Direktif 2002/61/EC                                  | Bir veya daha fazla azo grubu bu yönergenin 2a maddesine uygun şekilde 30 ppm'in üzerinde insan derisine veya ağız boşluğuna doğrudan ve uzun süre temas eden tekstil ve deri eşyalarında kullanılamaz. |
| Direktif 2004/37/EC                                  | o-toluidin 2004/37/EC sayılı direktif ile düzenlenir, ki bu direktif işçilerin kategori 1 ve 2'deki kanserojenlere veya mutajenlere maruz kaldıkları faaliyetler için geçerlidir.                       |
| JAPONYA  |   |
| Japonya İş Sağlığı Derneği (JOH)                     | OEL <sup>****</sup> = 1 ppm (4,4 mg/m <sup>3</sup> ) IARC sınıflandırmasını esas almaktadır.  |
| TÜRKİYE  |   |
| Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı                 | Herhangi bir veri yer almamaktadır.   |

PEL: İzin verilen maruz kalma sınırı, \*\*TLV-TWA: Eşik limit değeri - zaman ağırlıklı ortalama,

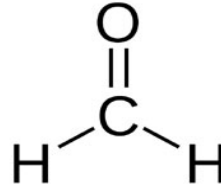
\*\*\*IDLH: Direkt olarak yaşam ve sağlık için tehlikeli, \*\*\*\*OEL: Mesleki maruz kalma limiti.

## Formaldehit

Metanolün buhar fazında oksitlenmesi ile katalitik olarak büyük miktarlarda üretilen bir kimyasaldır (Şekil 3). Küresel düzeyde yıllık formaldehit üretimi, yaklaşık olarak 21 milyon tondur. En fazla reçine üretiminde ve daha az miktarlarda ise bağlayıcı ve yapıştırıcı yapımında (odun ürünleri, plastikler, tekstil), biyosit ve koruyucu ürün olarak (tarım, ilaç, kozmetik) ve kimyasal reaksiyonlarda ara ürün olarak kullanılmaktadır. Formaldehit, patoloji ve anatomi laboratuvarlarında geleneksel doku koruyucu kimyasalı olarak da kullanılmaktadır (44).

## Maruziyet

Renksiz, reaktif bir organik çözücü olup, doğada her yerde bulunmaktadır. Formaldehit havada (0,2-47 ppb), içme suyunda (10-100 ppb) ve çığ/doğal yiyeceklerde (1-90 ppm) bulunmaktadır. Ayrıca çevredeki en önemli formaldehit kaynağı araba egzozlarıdır. Formaldehitin doğadaki yarılanma süresi fotokimyasal süreçler, biyolojik ayrışmalar ve çöktürmeden dolayı kısadır. Endüstri ve diğer çeşitli sektörlerde, formaldehite mesleki maruziyet sanayisinin türüne göre değişmektedir. Formaldehite uzun süreli mesleki maruziyetin en yüksek değerlerinin



Şekil 3. Formaldehitin kimyasal formülü

tekstil, hazır giyim sektörü, kürk işleme, mobilya ve ahşap zemin cilalama sektöründe 2-5 ppm (2,5-6,1 mg/m<sup>3</sup>) arasında olduğu; mumyalama işinde çalışanlar ve kâğıt işçileri gibi kısa dönem mesleki maruziyetlerde ise en yüksek değerlerinin 3 ppm'den fazla olduğu bilinmektedir. Ayrıca, saç düzeltirme işlemleri sırasında formaldehitin açığa çıkması nedeniyle kuaförler için bir mesleki maruziyet etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır (44, 45).

### Brezilya fönü (keratin) uygulamasında formaldehitin açığa çıkması

Brezilya keratin uygulaması (BKT) diğer adı ile Brezilya fönü; saçın ısı düzeltirme işlemi yardımı ile geçici keratin iplikçikleri arasındaki hidrojen bağlarının geçici olarak kırılması işlemidir. Fakat saçlar ısladığı zaman etkisi kaybolmaktadır. Saç düzeltirme işlemi; uygulama, şok kurutma ve düz ütüleme olmak üzere üç temel işlemi içermektedir ve bu basamaklardan sıcaklığın en fazla uygulandığı düz ütüleme kısmında açığa çıkan formaldehit miktarının ve buna bağlı olarak maruziyet yoğunluğunun arttığı düşünülmektedir. ABD ve diğer çeşitli ülkelerde, 'formaldehit içermez' etiketi ile satılan BKT ve benzer ürünlerin, kabul edilemeyen yüksek değerlerde (%11'e kadar) formaldehit içerdiği belirtilmektedir. Kozmetik İçerikleri Araştırma (CIR) uzman panelinin değerlendirmesine göre kozmetik ürünlerindeki formaldehit miktarının koruyucu olarak en fazla %0,2 miktarında olması gerekmektedir (16, 17).

Oda sıcaklığında gaz halinde olan formaldehit, bir su molekülü ile tepkimeye girerek metilen glikole dönüşür ve oluşan bu reaksiyon, çeşitli koşullarda kolayca tersine çevrilebilir. Oluşan her iki bileşik de dengede bulunur, sürekli ve hızla birbirlerine dönüşürler. Saç düzeltirme ürünlerinde metilen glikol de yer alabilmektedir ve bazı durumlarda bu konsantrasyon %9,6'ya kadar ulaşabilir ki bu da formaldehit için belirlenen limitten (%0,2) çok daha yüksektir (45). Saç düzeltirme ürünlerinde metilen glikol/formaldehit, %0,2 formaldehit eşdeğeri konsantrasyonda kullanıldıklarında, ortama salınan formaldehit gaz miktarının 0,1 mg/m<sup>3</sup> (0,08 ppm) değerini aşabildiği bilinmektedir. 0,1 mg/m<sup>3</sup> değerinin, Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) iç ortam hava kalite rehberlerindeki kısa süreli maruziyet değeri olduğu bilinmektedir (46).

Bu nedenle, Avrupa Komisyonu Tüketici Güvenliği Bilimsel Komitesi (SCCS) ve diğer ilgili kurum ve kuruluşlar (Amerikan Kimya Konseyi, CIR ve OSHA) pozisyonuna uygun olarak metilen glikolü formaldehit eşdeğeri olarak kabul etmektedir. Bu yüzden saç düzeltirme ürünlerinde formaldehit ve metilen glikolün %0,2 formaldehit eşdeğeri konsantrasyonda kullanılmalarının güvenli olmadığı düşünülmektedir (45).

### Formaldehit metabolizması

Formaldehit, tek karbon ünitelerinin taşınmasında yer alan bir ara maddedir ve metabolik olarak aktif tüm hücre ve dokularda ölçülebilir

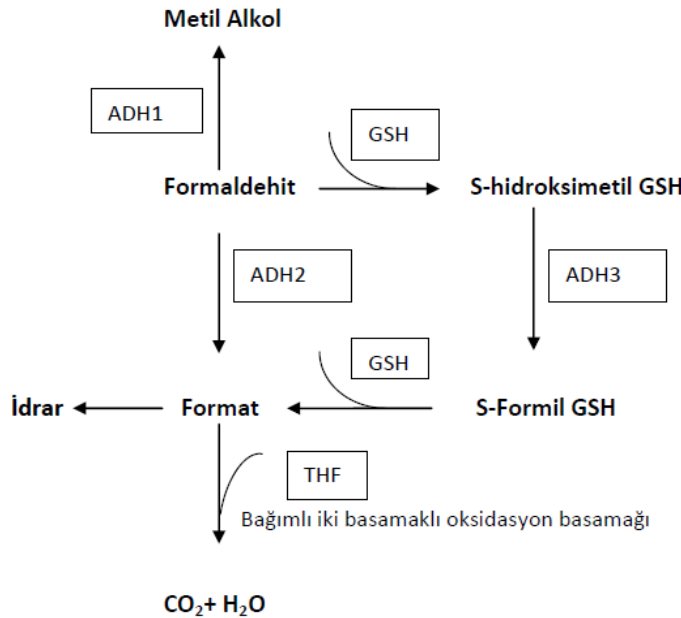
konsantrasyonlarda bulunur. Formaldehit, sulu çözeltilerde hızlıca diol formu olan metadiola (metilen glikol, formaldehit hidrat) dönüşür ve bu durum formaldehit ile denge içerisinde. Metadiol dokulara hızlıca penetre olabilir, bu nedenle formaldehite eşdeğer miktarda metadiol kemik iliği dokularına kadar ulaşabilmektedir. Formaldehit, üst solunum yollarından kolayca absorbe olabilmektedir. Deri yolu ile absorpsiyonu sınırlıdır. Solunum yolu maruziyeti sonrası formaldehit, mukus ya da protein ve nükleik asitler gibi hücrel makromoleküller ile direkt olarak reaksiyona girmektedir.

Formaldehit, alkol dehidrogenaz enzimi (ADH1) ile metil alkolle indirgenebilir ya da glutatyon bağımlı alkol dehidrogenaz enzimi (ADH3) ile ya da aldehit dehidrogenaz enzimi (ALDH2) aracılığıyla formata oksitlenir ve idrar yolu ile atılır. Format öte yandan tetrahidrofolat (THF) bağımlı iki basamaklı oksidasyon basamağı ile daha ileri oksidasyon basamağında

karbondioksit ve suya parçalanır. Bunun yanında solunum yolu ile alınan formaldehitin %22-42'si mukus tarafından uzaklaştırılmaktadır. Formaldehitin metabolizması Şekil 4'de kısaca gösterilmiştir (19, 47).

### Toksisitesi

Formaldehitin havadaki 0,1 ve 0,5 ppm konsantrasyonlarına maruziyet sonucunda, en çok açığa çıkan sağlık sorunu göz irritasyonudur (14). Akut formaldehit maruziyeti sonucunda temas dermatiti, baş ağrıları, hamilelik komplikasyonları, solunum irritasyonu, immünolojik ve nörolojik sorunlar açığa çıkmaktadır. Kronik formaldehit maruziyetinde ise burunda kronik iltihaplanma, siliya kaybı, hafif displazi, hiperplazi ve skuamöz metaplazi görülmektedir. Formaldehitin sitotoksitesi ise birçok *in vitro* sistemde doğrulanmıştır. Formaldehitin insanlarda kansere neden olduğu konusunda yeterli



Şekil 4. Formaldehitin biyotransformasyonu (47)

veri bulunmaktadır. Formaldehit, nazofarenks kanseri ve lösemiye neden olmaktadır. Bunun yanı sıra formaldehit maruziyeti ile sinonazal kanser arasında pozitif bir ilişki olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle formaldehit IARC tarafından insan karsinojeni (Grup 1) olarak sınıflandırılmıştır (19).

### Deneysel sistemlerde formaldehit ile yapılmış çalışmalar

Formaldehite inhalasyon yolu ile maruz kalan deney hayvanlarında, maruziyete bağlı nazal dokularında olumsuz etkilerin açığa çıktığı gözlenmiştir. Formaldehitin genotoksik etkisi deney hayvanlarında yapılan çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Yapılan *in vitro* çalışmalar sonucunda, formaldehitin hem klastojenik etkilerinin olduğu hem de DNA üzerinde doğrudan mutasyona sebep olduğu bulunmuştur. 5-10 ppm arasında formaldehite maruz kalan sıçanların kan, karaciğer ve akciğer hücrelerindeki DNA sarmal kırıklarının arttığı Comet testi ile gösterilmiştir (19, 48).

### Formaldehit maruziyetine ilişkin epidemiyolojik çalışmalar

Formaldehite maruz kalan bireylerde, karsinojenik etkinin erken dönemdeki lezyonlarından biri olan DNA-protein çapraz bağlanma miktarının arttığı, 1996 yılında yapılan bir çalışmada ortaya konmuştur (49). Ülkemizde patoloji ve anatomi laboratuvarlarında çalışanlarda yapılan çalışmalarda, 2-4 ppm arasında formaldehite maruz kalan bireylerin gerek nazal ve gerekse yanak epitel hücrelerinde mikroçekirdek sıklıklarının arttığı ve bu nedenle maruziyete bağlı DNA hasarının olduğu ortaya konmuştur (50, 51). Hastanelerin anatomi ve patoloji laboratuvarlarında çalışan ve formaldehite maruz kalan bireylerin periferik lenfositlerinde, kardeş kromatid değişikliklerinde artış (52), kromozomal aberasyon sıklıkları ve DNA hasarındaki (Comet yöntemi ile) artışlar tespit edilmiş olup, genotoksitesite parametrelerindeki bu artışların genelde 0,38 ppm

düzeyinde formaldehit maruziyetine bağlı olarak ortaya çıktığı ve bu nedenle uygun güvenlik önlemleri ve tıbbi izlem gerektiği belirtilmektedir (53). Mısır'da kozmetik ürünlerin üretildiği birimlerde çalışan bireylerde yapılan çalışmalarda, formaldehit maruziyetine bağlı olarak lipid peroksidasyon ve p53 düzeylerinde önemli artışların olduğu gösterilmiştir (54). Bu çalışma sonuçları, formaldehitin mesleki maruziyetine bağlı ortaya çıkabilecek karsinojenik etkilerin anlaşılması açısından önemlidir. Amerika'da 6.000'den fazla salonda, Brezilya fönü gibi saç şekillendirme uygulamasını yapan bireylerde; gözlerde sulanma, burun akıntısı, üst solunum yolu tahrişi ve burun kanamaları gibi şikâyetleri olduğu belirtilmektedir (33).

### Formaldehitin yasal düzenlemelerdeki yeri

Formaldehit, hem Amerika Ulusal Toksikoloji Programı Bölümü (NTP) hem de IARC tarafından insan karsinojeni (Grup 1) olarak tanımlanmıştır (19, 49). Kozmetik içerikleri (şimdiki Kişisel Bakım Ürünleri Konseyi) uzman paneline göre formaldehit konsantrasyonu, tüketici maddelerin içerisinde koruyucu olarak maksimum konsantrasyonun %0,2 olduğunda kullanılmasının güvenilir olduğunu savunmaktadır (28). Belirli kuruluşların mesleki maruziyet limitleri Tablo 3'de gösterilmiştir

### Diğer kozmetik ürün bileşenlerinin lokal ve sistemik toksik etkileri

Perma çözültisinin etken maddesi olan tiyoglikolik asit (TGA), deri yolu ile absorbe olarak çeşitli organ ve sistemlerdeki toksik etkisi deneysel sistemlerde gösterilmiş bir kimyasaldır. Tiyoglikolik asit içeren perma çözültisine maruz kalan kuaförlük yapan az sayıda bireyde yapılan çalışmada, idrar örneklerinde mutajenik aktivitenin arttığı, saç folikül hücrelerinde genotoksik etki göstergesi olarak mikroçekirdek sıklığının arttığı ve kadın bireylerde adet dönemi ile ilgili bozuklukların arttığı gösterilmiştir (55). Ancak bu çalışma sonuçlarının daha fazla sayıda bireyde

Tablo 3. Formaldehit için mesleki maruziyet limitleri

| Ülkeler                              | Konsantrasyon (ppm)   | Karsinojen sınıflandırması |
|--------------------------------------|-----------------------|----------------------------|
| <b>Amerika</b>                       |                       |                            |
| OSHA (PEL)                           | TWA* 0,75<br>STEL** 2 | Karsinojenik               |
| <b>Avrupa</b>                        |                       |                            |
| Almanya                              | TWA 0,3<br>STEL 0,37  | Kategori 1B                |
| <b>Japonya</b>                       | TWA 0,5               | İnsan karsinojeni          |
| <b>Türkiye</b>                       |                       |                            |
| Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı | -                     | -                          |

\*TWA: Zaman ağırlıklı ortalama

\*\*STEL: Kısa süreli maruziyet değeri

yapılacak çalışmalar ile doğrulanması gereği açıktır.

Oksidatif saç boyalarının içerisinde bulunan en önemli öncül boyar maddelerden biri olan para-fenilendiamin (PPD)'in, temas alerjisine neden olduğu çok iyi bilinmektedir. Bu durum, PPD'nin deriye uygun miktarlarda penetre olabildiği ve biyolojik olarak aktif olduğunu göstermektedir. Nitekim özellikle kuaför ve güzellik salonlarında çalışan bireylerin temas alerjisi vakalarındaki artışlarda, PPD'nin katkısının önemli olduğu gösterilmiştir (10).

Oksidatif saç boyaları ile boyama işleminde, PPD ve hidrojen peroksit karışımının ortaya koyduğu reaksiyon zinciri ve oluşan boyar madde ve yan ürünleri iyi bilinmektedir (10). 2015 yılında yapılan *in vitro* çalışmada (56), PPD'nin tek başına ya da hidrojen peroksit ile kombine kullanımında, insan keratinosit hücrelerinde reaktif oksijen türlerin oluşumu artmakta bu da oksidatif strese ve takiben DNA hasarına neden olmaktadır. Bu durum, derinin bariyer özelliğinin bozularak toksik maddelerin vücuda girişine olanak vermesi açısından önemlidir.

Çalışma sonuçlarına göre keratinositlerde mutajenik lezyon oluşumunun gözlenmesi, bireysel ya da mesleki maruziyete bağlı kanser riski açısından kalıcı saç boyalarının daha dikkatli incelenmesini gerekli hale getirmektedir. 2011 yılında yapılan kesitsel bir çalışmada, Sudan'da altı kuaför salonunda ortalama altı yıldır PPD'ye maruz kalan 72 kadın çalışanın böbrek yetmezliği, proteinüri ve hematüri prevalansının yüksek olduğu ve bulguların PPD maruziyeti ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (57).

Güzellik salonu çalışanlarında gözlenen oksidatif stres ve DNA hasar göstergelerindeki düzensizliklerde, uçucu organik bileşiklere (etanol, aseton, toluen, 2-propanol, 2-butanon, etil asetat ve n-butil asetat gibi) düşük düzeyde mesleki maruziyetin etkisinin göz ardı edilmemesi gerektiği belirtilmektedir (34).

## SONUÇ

Ülkemizdeki kadın ve erkek kuaför sayısını (3) dikkate alarak, her iş yerinde en az iki kişi çalıştığı varsayıldığında, yaklaşık 160.000 bireyin mesleki olarak yüzlerce kimyasal etkene potansiyel

maruziyetleri söz konusudur. Bu kimyasal etkenlerin çeşitli toksik etkileri (irritasyon, allerji, astım, üreme sisteminde toksik etkiler, karsinojenik ve mutajenik etki gibi) göz önüne alındığında bu meslek grubu, maruziyet açısından 'risk' grubunu oluşturmaktadır.

2011-2015 yılları arasında yapılan çalışmalarda, Türkiye ve diğer bazı ülkelerdeki saç boyası örnekleri ve saç perma çözeltilerinde yasak olmasına rağmen karsinojenik özellikli orto-toluidin kimyasalının tespit edilmesi (14, 15), ABD ve diğer çeşitli ülkelerde, "formaldehit içermez" etiketi ile satılan BKT ve benzer ürünlerin, kabul edilemeyen yüksek değerlerde karsinojenik etkili formaldehit içermesi (16, 17) konunun önemini giderek arttırmaktadır.

Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı'na bağlı Çalışma ve Sosyal Güvenlik Eğitim ve Araştırma Merkezi (ÇASGEM) tarafından meslek hastalıkları konusunda hazırlanan raporda, Türkiye'de mesleki deri hastalıklarının en sık görüldüğü meslekler arasında kuaförlere yer verilmiştir (58).

Derlememizin öncelikli konusu olan karsinojenik potansiyeli olan kimyasallara, kuaförlerin maruziyet miktarları konusunda ülkemizde yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışma sonuçları genelde ankete dayalı verilerden oluşmaktadır (22). Diğer ülkelerde ise kuaförlerdeki mesleki maruziyet çalışmaları, başlıca iş yeri havasındaki kimyasal madde analizine yöneliktir, çok az sayıda çalışmada kuaförlerin belirli kimyasallara dermal ve sistemik

maruziyetleri ölçülmüştür (10).

Bilindiği üzere IARC'nin yaptığı değerlendirmede, kuaförlük mesleği, mesane kanseri risk verileri esas alındığında Grup 2A (insanda muhtemelen karsinojenik) da yer almaktadır.

Ülkemizdeki tüm ölümlerin %20'sinin kanser nedeniyle olduğu bilinmektedir. Sağlık Bakanlığı'nın 2014 yılı verilerine göre erkeklerde görülen ilk dört kanser türü sırasıyla akciğer, prostat, kolorektal ve mesane kanserleridir. Tüm kanser verilerimizde, mesleki kanserlerin payının ne olduğu konusunda elimizde güvenli bir veri bulunmamaktadır (59).

Mesleki maruziyete bağlı kanserlerin önlenabilir olduğu bilinmektedir. Moleküler epidemiyoloji, mesleki kanserlerin önlenmesinde önemli bir yaklaşımdır. Bu yaklaşımda, insanlarda yapılan biyoizleme ya da analitik epidemiyolojik çalışmalarda, çeşitli biyogöstergelerin kullanımı öngörülmektedir (60). Bu biyogöstergeler kullanılarak Türkiye'de kuaförlük mesleğinde çalışan bireylerin söz konusu karsinojenik/mutajenik kimyasallara maruziyetinin teşhis ve tespitini yapmak, maruziyete bağlı muhtemel toksik (genotoksik) etkileri özellikle hedef dokularda araştırılarak kanser gelişimi öncesi ortaya çıkan erken etkileri tespit etmek çok önem taşımaktadır. Bunun yanı sıra, kuaförlük mesleğinin yapıldığı iş yeri ortamında, uygulanan yasal düzenlemelerin yararlarını izleme açısından bu tip çalışmalar yol gösterici olacaktır.



## KAYNAKLAR

1. Anonymous. Barbers, Hairstylists, and Cosmetologists. <https://www.bls.gov/ooh/personal-care-and-service/barbers-hairdressersand-cosmetologists>, (Erişim Tarihi: 18.07.2017).
2. Anonymous. 'How to Get Along Code'. Europe/Uni-Europa. Code of Conduct. Guidelines for European Hairdressers. 2001.
3. Anonymous. Esnaf ve Sanatkâr İstatistikleri Bülteni, T.C. Gümrük ve Ticaret Bakanlığı Esnaf ve Sanatkârlar Genel Müdürlüğü, [http://esnaf.gtb.gov.tr/data/531d84fe487c8ebb2c3883ba/%C5%9Eubat\\_2014\\_esnaf.pdf](http://esnaf.gtb.gov.tr/data/531d84fe487c8ebb2c3883ba/%C5%9Eubat_2014_esnaf.pdf)., (Erişim Tarihi: 18.07.2017).
4. Anonymous. Occupational exposures of hairdressers and barbers and personal use of hair colourants. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum, 1993;57:43118.
5. Silverman DT, Morrison AS, Devesa SS. Bladder Cancer. In: Schottenfeld D, Fraumeni JF, eds. Cancer Epidemiology and Prevention. New York: Oxford University Press, 1996:1156-79.
6. Babish JG, Scarlett JM, Voekler SE, Gutenmann WH, Lisk DJ. Urinary mutagens in cosmetologists and dental personnel. J Toxicol Environ Health, 1991; 34: 197-206.
7. Ameille J, Pauli G, Calastreng-Crinquand A, Vervloët D, Iwatsubo Y, PopinE, et al. Occupational asthma in France, 1996-99: the ONAP programme. Occup Environ Med, 2003; 60: 136-41.
8. O'Connell RL, White IR, Mc Fadden JP, White JML. Hairdressers with dermatitis should always be patch tested regardless of atopy status. Contact Dermatitis, 2010; 62: 177-81.
9. Esin MN, Bulduk S, Ince H. Work related risks and health problems of working children in urban Istanbul, Turkey. J Occup Health, 2005; 47 (5): 431-6.
10. Anonymous. Some aromatic amines, organic dyes, and related exposures. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum, 2010; 99: 1-678.
11. Cote TR, Dosemeci M, Rothman N, Banks, RB, Biggar RJ. Non Hodgkin's lymphoma and occupational exposure to hair dyes among people with AIDS. Am J Public Health, 1993; 83: 598-99.
12. Anonymous. European Union Open Data Portal. Cosmetic ingredient database (Cosing). List of substances prohibited in cosmetic products. [http://ec.europa.eu/growth/tools-databases/cosing/pdf/COSING\\_Annex%20II\\_v2.pdf](http://ec.europa.eu/growth/tools-databases/cosing/pdf/COSING_Annex%20II_v2.pdf), (Erişim Tarihi: 18.07.2017).
13. Turesky RJ, Freeman JP, Holland RD, Nestorick DM, Miller DW, Ratnasinghe DL, Kadlubar FF. Identification of aminobiphenyl derivatives in commercial hair dyes. Chem Res Toxicol, 2003; 16: 1162-73.
14. Akyuz M, Ata S. Determination of aromatic amines in hair dye and henna samples by ionpair extraction and gas chromatography-mass spectrometry. J Pharm Biomed Anal, 2008; 47:68-80.
15. Johansson GM, Jönsson BA, Axmon A, Lindh CH, Lind ML, Gustavsson M, et al. Exposure of hairdressers to ortho- and meta-toluidine in hair dyes. Occup Environ Med, 2015; 72: 57-63.
16. Durgam S, Page E, Formaldehyde Exposures During Brazilian Blowout Hair Smoothing Treatment at a Hair Salon - Ohio. Health Hazard Evaluation Report, HETA 2011-0014-3147, Centers for Disease Control and Prevention: Department of Health and Human Services. 2011.
17. Mbulelo HM, Peter S, Nonhlanhla PK. Elevated formaldehyde concentration in "Brazilian keratin type" hair-straightening products: a cross-sectional study. J Am Acad Dermatol, 2014;70: 276-80.
18. Peteffi GP, Antunes MV, Carrer C, Valandro ET, Santos S, Glaeser J, et al. Environmental and biological monitoring of occupational formaldehyde exposure resulting from the use of products for hair straightening. Environ Sci Pollut Res Int, 2016; 23 (1): 908-17.
19. Anonymous. Chemical Agents and Related Occupations. Vol.100F. A review of human Carcinogens. France: Lyon. 2012; 401-30, <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100F/mono100F.pdf>, (Erişim Tarihi: 18.07.2017).

20. Sollund BE, Moen BE. Chemical exposure in hairdresser salons: effect of local exhaust ventilation. *Ann Occup Hyg*, 1998; 42 (4): 277-81.
21. Deschamps F, Langrand J, Lesage FX. Health assessment of self-employed hairdressers in France. *J Occup Health*, 2014; 56 (2): 157-63.
22. Mandiracioglu A, Kose S, Gozaydin A, Turken M, Kuzucu L. Occupational health risks of barbers and coiffeurs in Izmir. *Indian J Occup Environ Med*, 2009; 13 (2): 92-6.
23. Bahi T, Carlos RM, Agustín MM. Risk of cancer among hairdressers and related workers: a metaanalysis. *Int J Epidemiol*, 2009; 38: 1512-31.
24. Dario C, Sara De M, Jay HL, Sholom W, Margaret T, Angela CP, et al. Lung cancer and occupation in a population-based case-control study. *Am J Epidemiol*, 2010; 171: 323-33.
25. Melanie H, Anja S, Grita S, Madeleine D, Albert N. Bladder cancer among hairdressers: a metaanalysis. *Occup Environ Med*, 2010; 67: 351-8.
26. Sardaş S, Aygün N, Karakaya AE. Genotoxicity studies on professional hair colorists exposed to oxidation hair dyes. *Mutat Res*, 1997; 394 (1-3): 153-61.
27. İlbars H. Kuaförlerde ve kozmetik üretim yerinde çalışan bireylerde olası genotoksik etkilerin mikroçekirdek testi ile araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1997.
28. Mai´ra PG, Priscila K, Gisele M, Gilka FG. Assessment of occupational genotoxic risk among brazilian hairdressers. *Ann Occup Hyg*, 2008; 52 (7): 645-51.
29. Rickes LN, Alvarengo MC, Souza TM, Garcias GL, Martino-Roth MG. Increased micronucleus frequency in exfoliated cells of the buccal mucosa in hairdressers. *Genet Mol Res*, 2010; 9 (3): 1921-8.
30. Huiqi L, Gabriella K, Carola L, Ayman A, Tomasz KW, Karin B, Maria A. Alterations of Telomere Length and DNA Methylation in Hairdressers: A Cross-Sectional Study. *Environ Mol Mutagen*, 2016; 57: 159-67.
31. Aslantürk ÖS, Aşkin Çelik T. Genotoxic risk assessment in professionals working hairdressers area using buccal micronucleus assay, in Aydın City, Turkey. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2017; 24 (17): 14700-5.
32. Alexandra T, Argyro L, Stavroula C, Athena L, Nikos E, Evangelos CA. Indoor air in beauty salons and occupational health exposure of cosmetologists to chemical substances. *Int J Environ Res Public Health*, 2010; 7: 314-24.
33. Michelle S, Trevor B, Kazukiyo K, Mark N. Formaldehyde exposure during simulated use of a hair straightening product. *J Occup Environ Hyg*, 2013; 10: 104-10.
34. Peter G, Maciej S, Magdalena BK, Radostaw Ś, Anna SP, Ewa T, et al. Dysregulation of markers of oxidative stress and DNA damage among nail technicians despite low exposure to volatile organic compounds. *Scand J Work Environ Health*, 2015; 41 (6): 579-93.
35. Anonymous. National Toxicology Program (NTP). o-Toluidine and o-toluidine hydrochloride. Report on Carcinogens, 2004; 11: 258-9. <https://ntp.niehs.nih.gov/pubhealth/roc/index-1.html>, (Erişim Tarihi: 18.07.2017).
36. English JC, Bhat VS, Ball GL, McLellan CJ. Establishing a total allowable concentration of o-toluidine in drinking water incorporating early lifestage exposure and susceptibility. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2012; 64 (2): 269-284.
37. Birner G, Neumann HG. Biomonitoring of aromatic amines II: Hemoglobin binding of some monocyclic aromatic amines. *Arch Toxicol*, 1988; 62: 110-5.

38. Weisburger EK, Russfield AB, Homburger F, Weisburger JH, Boger E, Van Dongen CG, et al. Testing of twenty-one environmental aromatic amines or derivatives for long-term toxicity or carcinogenicity. *J Environ Pathol Toxicol*, 1978; 2: 325-56.
39. Jodynis-Liebert J, Murias M. Modulation of antioxidant defence system by dietary fat in rats intoxicated with o-toluidine. *Hum Exp Toxicol*, 2002; 21: 659-65.
40. Sorahan T, Hamilton L, Jackson JR. A further cohort study of workers employed at a factory manufacturing chemicals for the rubber industry, with special reference to the chemicals 2-mercaptobenzothiazole (MBT), aniline, phenyl-beta-naphthylamine and o-toluidine. *Occup Environ Med*, 2000; 57: 106-15.
41. Sorahan T. Bladder cancer risks in workers manufacturing chemicals for the rubber industry. *Occup Med (Lond)*, 2008; 58: 496-501.
42. Gaber K, Harreus UA, Matthias C, Kleinsasser NH, Richter E. Hemoglobin adducts of the human bladder carcinogen o-toluidine after treatment with the local anesthetic prilocaine. *Toxicology* 2007; 229(12): 157-164.
43. Carreón T, Hein MJ, Viet SM, Hanley KW, Ruder AM, Ward EM. Increased bladder cancer risk among workers exposed to o-toluidine and aniline: a re-analysis. *Occup Environ Med*, 2014; 67: 348-350.
44. Anonymous. National Toxicology Program (NTP). Formaldehyde (Gas). NTP 14th Report on Carcinogens. 2016.
45. Anonymous. Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS): Opinion on methylene glycol. SCCS/1483/12, 2012.
46. Golden R, Valentini M. Formaldehyde and methylene glycol equivalence: critical assessment of chemical and toxicological aspects. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2014; 69: 178-86.
47. Tulpule K, Hohnholt MC, Dringen R. Formaldehyde metabolism and formaldehyde-induced stimulation of lactate production and glutathione export in cultured neurons. *J Neurochem*, 2013; 125 (2): 260-72.
48. Speit G, Zeller J, Schmid O, Elhajouji A, Ma-Hock L, Neuss S. Inhalation of formaldehyde does not induce systemic genotoxic effects in rats. *Mutat Res*, 2009; 677: 76-85.
49. haham J, Bomstein Y, Meltzer A, Kaufman Z, Palma E, Ribak J. DNA- protein crosslinks, a biomarker of exposure to formaldehyde- in vitro and in vivo studies. *Carcinogenesis*, 1996; 17: 121-5.
50. Burgaz S, Cakmak G, Erdem O, Yilmaz M, Karakaya AE. Micronuclei frequencies in exfoliated nasal mucosa cells from pathology and anatomy laboratory workers exposed to formaldehyde Neoplasma, 2001; 48 (2): 144-7.
51. Burgaz S, Erdem O, Cakmak G, Erdem N, Karakaya A, Karakaya AE. Cytogenetic analysis of buccal cells from shoe-workers and pathology and anatomy laboratory workers exposed to n-hexane, toluene, methyl ethyl ketone and formaldehyde. *Biomarkers*, 2002; 7 (2): 151-61. Erratum in: *Biomarkers*, 2006; 11 (4): 383.
52. Shaham J, Gurvich R, Kaufman Z. Sister chromatid exchange in pathology staff occupationally exposed to formaldehyde. *Mutat Res*, 2002; 514: 115-23.
53. Costa S, Carvalho S, Costa C, Coelho P, Silva S, Santos LS, et al. Increased levels of chromosomal aberrations and DNA damage in a group of workers exposed to formaldehyde. *Mutagenesis*, 2015; 30 (4): 463-73.
54. Attia D, Mansour N, Taha F, Seif El Dein A. Assessment of lipid peroxidation and p53 as a biomarker of carcinogenesis among workers exposed to formaldehyde in the cosmetic industry. *Toxicol Ind Health*, 2016; 32 (6): 1097-105.

55. Gan HF, Meng XS, Song CH, Li BX. A survey on health effects in a human population exposed to permanent-waving solution containing thioglycolic acid. *J Occup Health*, 2003; 45 (6): 400-4.
56. Zanoni TB, Hudari F, Munnia A, Peluso M, Godschalk RW, Zanoni MV, et al. The oxidation of p-phenylenediamine, an ingredient used for permanent hair dyeing purposes, leads to the formation of hydroxyl radicals: oxidative stress and DNA damage in human immortalized keratinocytes. *Toxicol Lett*, 2015, 15; 239 (3): 194-204.
57. Hamdouk M, Abdelraheem M, Taha A, Cristina D, Checherita IA, Alexandru C. The association between prolonged occupational exposure to paraphenylenediamine (hair-dye) and renal impairment. *Arab J Nephrol Transplant*, 2011; 4 (1): 21-5.
58. Anonymous. ÇASGEM, Meslek Hastalıkları. Ankara: Özyurt Matbaacılık. 2013.
59. Anonymous. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Faaliyet Raporu, Şubat 2015. [http://www.sp.gov.tr/upload/xSPRapor/files/vYbQW+2014\\_faaliyet\\_raporu.pdf](http://www.sp.gov.tr/upload/xSPRapor/files/vYbQW+2014_faaliyet_raporu.pdf), (Erişim Tarihi: 18.07.2017).
60. Burgaz S. Türkiye’de sağlık çalışanlarının mesleki riskleri-kimyasal tehlikeler. *Sağlık ve Toplum*, 2004, 14 (1): 16-25.

## Kardiyovasküler hastalıklarda barsak mikrobiyotasının rolü

### The role of gut microbiota in cardiovascular diseases

Zinnet Şevval AKSOYALP<sup>1</sup>, Cahit NACİTARHAN<sup>1</sup>

#### ÖZET

Barsak mikrobiyotası, gastrointestinal sistemde yaşayan organizmaların tamamı olarak tanımlanmaktadır. Barsak mikrobiyotası çok komplekstir ve barsak mikrobiyotasında başlıca bakteri ve arkebakteri olmak üzere virüs, mantar ve birçok ökaryotik mikroorganizma yer almaktadır. Bu organizmaların çoğu kalın barsakta yer almakta ve yaşamın sürdürülmesinde önemli fizyolojik rol oynamaktadır. Barsak mikrobiyotası dinamiktir ve beslenme alışkanlıkları, yaşam tarzı, antibiyotikler ve genetik geçmiş ile düzenlenmektedir. Barsak mikrobiyotası besinlerden çeşitli metabolitlerin üretilmesinde önemli role sahiptir. Mikrobiyota vücuda alınan besinlere göre farklı metabolitler oluşturmaktadır. Bu metabolitlerin bazıları karbon ve enerji kaynağı olarak konak tarafından kullanılmakta ve obezite, iştah ve kolonik inflamasyonun modülasyonu üzerinde faydalı etkiler göstermekte, bazıları ise olumsuz etkiler meydana getirmektedir. Mikrobiyota ile hastalık risklerinin önceden tespit edilebileceği öngörülmektedir. Yapılan çalışmalarda, barsak mikrobiyotası bileşimi gastrointestinal sistem hastalıkları, obezite, diyabet, kanser ve depresyon, otizm, anksiyete ve Parkinson hastalığı gibi hemen hemen tüm hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Barsak mikrobiyotasının; barsak

#### ABSTRACT

The gut microbiota is defined as the all of the organism living in the gastrointestinal tract. The gut microbiota is very complex, and contains mainly bacteria and archebacteria, viruses, fungi and many eukaryotic microorganisms. Many of these organisms located in the large intestine and plays an important physiological role in the maintaining of life. Gut microbiota is dynamic and is regulated by dietary habits, lifestyle, antibiotics and genetic background. The gut microbiota has an important role in the production of various metabolites from nutrients. Microbiota produces different metabolites according to the nutrients. Some of these metabolites are used by the host as a source of carbon and energy and have beneficial effects on the modulation of obesity, appetite and colonic inflammation, while others cause adverse effects. It is predicted that disease risks can be estimated with microbiota. Gut microbiota was associated with almost all diseases such as gastrointestinal tract diseases, obesity, diabetes, cancer and depression, autism, anxiety and Parkinson's disease. Intestine-related effects of gut microbiota such as intestine immunity and

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Antalya



İletişim / Corresponding Author : Zinnet Şevval AKSOYALP

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası B-blok Kat: 3 Konyaaltı Antalya - Türkiye

Tel : +90 538 944 03 43 E-posta / E-mail : seval\_aksoyalp@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 21.07.2017

Kabul Tarihi / Accepted : 16.02.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.32068

Aksoyalp ZŞ, Nacitarhan C. Kardiyovasküler hastalıklarda barsak mikrobiyotasının rolü.

Türk Hij Den Biyol Derg, 2018; 75(2): 213-224

immunitesi ve barsak motilitesinin düzenlenmesi, besinlerin sindirilmesi, enerji üretimi, intestinal bariyerin ve barsak vasküler sistemin düzenlenmesi gibi barsakla ilgili etkileri iyi bilinmektedir fakat ekstra intestinal etkileri hakkındaki kesin bilgiler henüz sınırlıdır. Mikrobiyota ve metabolitlerin pek çok sistem üzerine ekstra intestinal etkileri araştırılırken özellikle kardiyovasküler sistem üzerine etkileri dikkat çekmektedir. Örneğin en sık görülen kardiyovasküler hastalıklardan kalp krizi, inme ve periferel damar hastalıkları gibi çoğunlukla tromboemboliye ikincil gelişen hastalıklarda barsak mikrobiyotasının rolü olduğu düşünülmektedir. Kardiyovasküler hastalıklarda barsak mikrobiyotasının rolü hakkında en ilginç kanıtlar, kardiyovasküler risk ile ilişkili yeni metabolitlerin ve yolların tanımlanması ve plazma örneklerinin metabolik analizleri sonucu elde edilmesidir. Ancak bu hastalıklarda mikrobiyotanın oluşturduğu etkinin mekanizmaları hala net olarak anlaşılmış değildir. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre batı ülkelerinde meydana gelen ölümlerin ana nedenlerinden biri kardiyovasküler hastalıklardır ve her yıl 20 milyon ölüm kardiyovasküler hastalıklardan meydana gelmektedir. Bu kadar fazla ölümün görüldüğü kardiyovasküler hastalıklarda, mikrobiyotanın rolünün gösterilmesi bu tür yaygın hastalıkların tedavisinde güncel tedavi yaklaşımlarından farklı, umut verici, yeni tedavi seçenekleri sağlayabilir. Bu nedenle, kardiyovasküler hastalıklarda terapötik strateji olarak barsak mikrobiyotasının düzenlenmesi üzerine ilgi giderek artmaktadır. Bu derlemede, barsak mikrobiyotası ile kardiyovasküler hastalıkların ilişkisi üzerine yapılmış son çalışmalara ve bu hastalıkları kontrol etmek için barsak mikrobiyotasını düzenleyecek olası yollara odaklanılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** gastrointestinal mikrobiyom, kalp ve damar hastalıkları, ateroskleroz, inflamasyon, probiyotikler, prebiyotikler, kısa zincirli yağ asitleri, kolin

intestinal motility regulation, digestion of nutrients, energy production, intestinal barrier and regulation of the intestinal vascular system are well known, but exact information about extra intestinal effects is still limited. While microbiota and its metabolites are being investigated for extra intestinal effects on many systems, the effects on the cardiovascular system are noteworthy. For example, it is thought that gut microbiota plays a role in diseases that are secondary to thromboembolism such as heart attack, stroke and peripheral vascular diseases. The most interesting evidence about the role of gut microbiota in cardiovascular diseases is the identification of new metabolites and pathways associated with cardiovascular risk and the metabolic analysis of plasma samples. However, the mechanism of action of microbiota in these diseases is still unclear. According to the World Health Organization, cardiovascular diseases are one of the main cause of deaths in Western countries. Every year, 20 million deaths occur in cardiovascular diseases. The demonstration of the role of microbiota in cardiovascular diseases where mortality is high may provide new, promising, and different treatment options than current treatment approaches. Therefore, interest in regulation of gut microbiota as a therapeutic strategy in cardiovascular diseases is increasing. This review focuses on recent studies on the relationship between gut microbiota and cardiovascular disease and possible ways to regulate gut microbiota to control of these diseases.

**Key Words:** gastrointestinal microbiome, cardiovascular diseases, atherosclerosis, inflammation, probiotics, prebiotics, volatile fatty acids, choline

## GİRİŞ

Önceden barsak florası olarak adlandırılmış olan barsak mikrobiyotası; barsağımızda yaşayan mikroorganizma popülasyonu olarak tanımlanmaktadır. Barsak mikrobiyotası çok karmaşıktır ve başlıca bakteri ve arkebakteri olmak üzere virüs, mantar ve birçok ökaryotik mikroorganizmanın yer aldığı  $10^{14}$ 'ten daha fazla organizmayı içermektedir (1). İnsanlar çok çeşitli mikrobiyota bileşimine sahip olmasına rağmen barsak mikrobiyotası ana olarak *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* ve *Proteobacteria* olmak üzere dört sınıftan meydana gelmektedir (2).

Kalın barsak en fazla sayıda bakteriyi içermektedir (barsak içeriğinin gramı başına  $10^{11}$ 'den fazla bakteri). Ağız  $10^{12}$ , ileum  $10^8$ - $10^9$  bakteri içermektedir. Jejunum  $10^5$ - $10^6$  içerirken mide  $10^3$ - $10^4$  ile en az sayıda bakteriyi içermektedir (3). İnsan sistemindeki tüm bakteriler karakterize edilip, tanımlanamamış olmasına karşın, yeni nesil sekanslama gibi moleküler biyoloji tekniklerindeki ilerlemeler barsak mikrobiyotasının anlaşılmasına büyük katkı sağlamıştır (4).

Anne karnında fetüsün barsağı fizyolojik olarak steril haldedir. Fetüs normal doğum sırasında annenin vajinal mikrobiyotasına maruz kalmakta, sezaryan ile doğumunda ise bebeğin bakteriyel barsak bileşimi annenin deri bakterilerinden oluşmakta ve normal veya sezaryan doğum ile doğan fetüslerin barsak mikrobiyotasında farklılıklara neden olmaktadır (5). Mikroorganizmalar doğum sonrasında hızlı bir şekilde insan barsağında kolonize olmakta ve trilyonlarca sayıda üreyip, konakçının hücre sayısından sayıca üstün hale gelmekte hatta yetişkin bireyin vücudunda kendi hücrelerinden on kat daha fazla bakteri hücresi bulunmaktadır. Yenidoğan barsağında *Proteobacteria* baskındır fakat çocukluktan (yaklaşık %16) yetişkinliğe (yaklaşık %4,6) doğru büyük ölçüde azalmaktadır (6). Bu da insan barsak mikrobiyotası bileşiminin yaş ile değiştiğini göstermektedir.

Beslenme mikroorganizmaların başka bir kaynağıdır. Hazır gıda ile beslenen bebeklere göre anne sütü ile beslenen bebeklerin barsak

mikrobiyotası içeriğinin farklı olduğu görülmüştür (5). Bebeğin barsak mikrobiyotası bileşiminde değişiklik yapan durumlardan bir diğeri de katı gıdaya geçiştir. Katı gıdaya geçiş sonrası yaşlılık dönemine kadar barsak mikrobiyotası göreceli olarak değişmemekte, yaşlılık döneminde ise barsak mikrobiyotası tekrar değişmektedir (7).

Mikrobiyota ile hastalık risklerinin önceden tespit edilebileceği öngörülmektedir. Yapılan son çalışmalarda, barsak mikrobiyotası bileşimi hemen hemen tüm hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Örneğin; gastrointestinal sistem hastalıkları, obezite, diyabet, kanser ve depresyon, otizm, anksiyete ve Parkinson hastalığı gibi nörolojik ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili bulunmuştur (8).

Barsak mikrobiyotası; barsakla ilişkili lenfoid dokunun (GALT "gut-associated lymphoid tissue") ve barsak motilitésinin düzenlenmesinde kritik role sahiptir (9). İntestinal bariyer bütünlüğü ve barsak vasküler sistem morfojeninde de rol oynamaktadır. (10). Ayrıca barsak mikrobiyotası; insan genomunda ifadenemeyen enzimler aracılığı ile sindirilemeyen karbonhidratlar ve bitki polisakaridlerinden enerji elde edilmesinde konağa yardımcı olmaktadır (11). Kolon mikrobiyotası sindirilemeyen karbonhidratları fermente etmekte ve bütirat gibi kısa zincirli yağ asitlerinin (KZYA) üretimine yol açmaktadır. Kısa zincirli yağ asitleri enerji harcamasını düzenleyen GPR41 (FFAR3) ve GPR43 (FFAR2) gibi G-protein kenetli reseptörlere (GPCR) bağlanmaktadır (12). Bir çalışmada, GPR43'ü eksik fareler düşük yağlı diyet verildiğinde bile obez oldukları, adipoz dokusunda GPR43'ü yüksek düzeyde ifadeleyen farelerin ise yüksek yağlı diyetle beslendiğinde bile zayıf kaldıkları görülmüş ve GPR43'ün KZYA-bağımlı aktivasyonu adipoz dokuda insülin sinyalini düzenlediği ve yağ birikimini engellediği gösterilmiştir (13). Bütirat; enteroendokrin L hücrelerinden glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) ve peptid YY (PYY) salınımı ile iştahı baskılamaktadır. Glukagon benzeri peptid-1'in artışı

adiposit insülin duyarlılığını arttırmaktadır ve sonuç olarak adipoz dokuda yağ birikimini engellemektedir (14).

Barsak mikrobiyotası, safra asitlerinin bileşimini etkileyerek de konağın metabolik durumunu düzenleyebilmektedir (15). Son olarak barsak mikrobiyotası ve konak ilişkisinin düzenlenmesinde, karaciğerin rolünün aydınlatılması gerekmektedir. Karaciğer vasküler güvenlik duvarı olarak oluşmuştur ve barsaktaki kommensal bakterilerin kan akımına girmesine engel olmaktadır. Farelerde karaciğer hasarı sonucu kommensal bakterilerin kandan uzaklaştırılma fonksiyonunun bozulduğu gösterilmiştir ve spontan sistemik immun cevap sonucu hastalıkların aktivitesi ve diğer patolojik durumlar artabilmektedir (16).

### Barsak Mikrobiyotası İçeriğini Etkileyen Faktörler

Barsak mikrobiyotası dinamikdir ve diyet, yaşam tarzı, antibiyotikler ve genetik geçmiş ile düzenlenmektedir. Thuny ve ark. (17), tarafından intravenöz olarak vankomisin ve gentamisin uygulamasının kilo alımı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Antibiyotik ve kilo alımı ilişkisi bebeklerde de gösterilmiştir. Saari ve ark. (18), ilk altı ay boyunca antibiyotik maruziyetinin sağlıklı çocukta kilo alımı ile ilişkilendirmiştir. Birçok çalışmada, antibiyotik kullanımının bakteriyel çeşitlikte azalmaya neden olabileceği ve stereotipik azalmalarla birlikte belli taksonların varlığında ise artış olabileceği gösterilmiştir. Antibiyotik tedavisinden sonra normal mikrobiyota dengesinin tekrar sağlanması antibiyotiklerin tipine ve spektrumuna bağlıdır (19). Güçlü ve geniş spektrumlu antibiyotiklerden biri olan klindamisin dört yıldan fazla süre barsak mikrobiyotasına etki edebileceğine dair bazı çalışmalar vardır (20). Antibiyotik tedavisi sonrası bozulmuş mikrobiyotanın; antibiyotik dirençli genlerin hastalık oluşturan türe transferini kolaylaştırdığı ve böylece ilaç direncinin arttırdığı öne sürülmektedir (19).

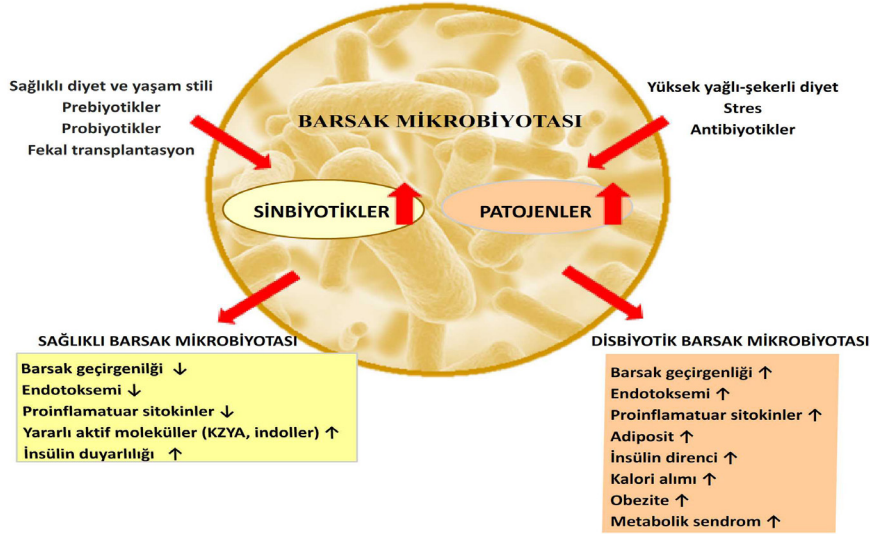
Barsak mikrobiyotası çeşitliliğine ana katkıyı

sağlayan besinlerdir. Diyetteki değişiklikler mikrobiyotadaki varyasyonların %57'sinden; konağın genetik varyasyonlarının ise sadece %12'sinden sorumlu olduğu öne sürülmüştür (21). Mikrobiyota bileşimi üzerine diyetin etkisi, anne sütü ve hazır mamalarla beslenme ile belirgin bir şekilde gözlemlenmiştir. Örneğin hazır mamalar ile beslenen bebeklere göre anne sütü ile beslenen bebeklerde *Bifidobacterium* spp. sayısı daha yüksek bulunmuştur (22).

Probiyotikler ve prebiyotikler barsak mikrobiyotasının metabolik aktivitesini ve bileşimini kontrol ettiği kabul edilen besin takviyeleridir. Probiyotikler, konak sağlığı için gıda bileşeni olarak kullanılan patojen olmayan mikroorganizmalardır. Jones ve ark. (23), tarafından hiperkolesterolemili bireylerde *Lactobacillus reuteri* türünün etkisini araştırmışlar ve bu türün önemli bir şekilde LDL-kolesterolü azalttığını bildirmişlerdir. Ayrıca nükleer reseptör farnesoid X reseptörünün (FXR) barsaktan yağ absorpsiyonunun azaltıcı bir faktör olarak rol oynadığı da öne sürülmüştür. Fermente edilmiş besin lifleri olan prebiyotiklerin barsaktaki bakterilerin aktivitesi ve bileşiminde değişiklikleri uyararak konağı etkilediği ve böylece konak sağlığını düzelttiği gösterilmiştir. Barsak mikrobiyotası bileşimini insan sağlığının yararına düzenlemek için gıda endüstrisinin en çok kullandığı prebiyotikler laktuloz, dirençli nişasta ve inüldür. Bunların çoğunlukla *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* cinsi bakterileri hedeflediği gösterilmiştir (24). Sinbiyotikler olarak adlandırılan prebiyotik ve probiyotiklerin kombinasyonunun obeziteye karşı faydalı olabileceği de gösterilmiştir (25) (Şekil 1).

Birçok çalışmada, farklı diyetlerin barsak mikrobiyotası üzerine etkileri gösterilmiştir (26). Diyetin mikrobiyotaya etkisini incelemek için Turnbaugh ve ark. (27) insan feçesini germ-free (GF, mikropsuz) fareye transplante ederek insan barsak mikrobiyotasını içeren farelerde çalışmayı yürütmüştür. Farenin düşük yağlı-bitki polisakkaridi





**Şekil 1.** Sağlıklı ve disbiyotik barsak mikrobiyotasının konak sağlığı üzerine etkileri

Sağlıklı barsak mikrobiyotasında sinbiyotik bakteriler ve patojen bakteriler denge halinde bulunmaktadır. Yüksek yağlı-şekerli diyet, stres ve antibiyotikler gibi çevresel faktörlerin etkisi ile sinbiyotik bakterilerin azalması ve/veya patojen bakterilerin artması sonucu disbiyotik barsak mikrobiyotası oluşmaktadır. Disbiyotik barsak mikrobiyotası; yağ birikimi, inflamasyon, insülin direnci, obezite ve metabolik sendromda artış ile ilişkilendirilmiştir.

ile zengin diyetinin yüksek yağlı ve şekerli diyet (Western/batı tipi diyet) ile değiştirilmesi tek gün içinde mikrobiyota bileşiminin değişmesine yol açmıştır. Batı tipi diyet ile beslenen farelerde, *Firmicutes* kolunun *Erysipelotrichi* sınıfı bakteri sayısının arttığı, *Bacteroides* spp. sayısının ise azaldığı saptanmıştır. Şehirde yaşayan İtalyan çocukların barsak mikrobiyotası kırsal kesimde yaşayan Afrikalı çocukların barsak mikrobiyotası ile karşılaştırıldığı bir çalışmada, *Bacteroides* yoğunluğu daha düşük ve *Enterobacteriaceae* yoğunluğu ise daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar İtalyan çocuklarının polisakkarit içeren bitkileri düşük oranda tüketimi ile ilişkilendirilmiştir (28). Fiziksel egzersizin barsak mikrobiyotasını düzenleyebileceği ve fiziksel aktivitenin mikrobiyotadaki faydalı türlerin sayısını arttırabileceği de başka bir çalışmada gösterilmiştir (29).

### Barsak Mikrobiyotası ve Kardiyovasküler Hastalıklar

Mikrobiyota-ilişkili doğal bağışıklık sistemi aktivasyonunun kardiyovasküler hastalıkların (KVH) gelişimine katkıda bulunduğu dair kanıtlar giderek artmaktadır. İngiliz multi etnik çalışması olan Wandsworth kalp ve inme çalışmasında, siyahi Afrikalılara göre beyaz ırk ve güney Asyalılarda lipopolisakkarit (LPS) seviyesinde artış tanımlanmıştır. Bu artış, etnik farklılıklarla ilişkili KVH risk faktörleri açısından tutarlı bulunmuştur. Artmış endotoksin seviyesi ile anormal metabolik sendrom prevalansı arasında pozitif ilişki gösterilmiştir (30).

Epidemiyolojik çalışmalarda da enfeksiyon ve KVH arasında ilişki olduğu öne sürülmüştür ve dişeti hastalıklarının yüksek KVH riski ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (31). Hayvan modellerinde ve insanlarda intestinal mikrobiyotanın KVH ile ilişkili olduğuna dair güçlü kanıtlar gösterilmiştir

(32). Aterosklerozlu 15 hastanın ağız, barsak ve aterosklerotik plak mikrobiyotası analiz edilmiş ve fekal örnekler ve aterosklerotik plak arasında birçok operasyonel taksonomik birim (OTUs) raporlanmış ve plak ilişkili mikrobiyotanın kısmi olarak barsaktan köken aldığı öne sürülmüştür. Ek olarak, aterosklerotik plağa sahip konağın mikrobiyotasında *Proteobacteri*'nin baskın olduğu kontrol grubunda ise *Roseburia* ve *Eubacterium* türlerinin arttığı gösterilmiştir (33).

Aterosklerozlu hastalarda, antibiyotik tedavisi ile ilgili klinik çalışmaların meta analizi ise antibiyotik tedavisinin kardiyovasküler mortalite üzerine faydalı etkilerini göstermede başarısız olmuştur (34). Günümüzde azitromisin ile yapılmış prospektif randomize bir çalışma koroner hastalıkların sekonder koruması için yürütülmüştür ancak KVH oranını azaltmada başarısız bulunmuştur (35).

Kardiyovasküler hastalıklarda, barsak mikrobiyotasının rolü hakkında en ilginç kanıtlar insanlarda kardiyovasküler risk ile ilişkili yeni metabolitlerin ve yolların tanımlanması ve plazma örneklerinin metabolik analizleri sonucu elde edilmesidir. Son çalışmalar, barsak mikrobiyotasının; insülin direnci ve non-alkolik yağlı karaciğer hastalığında rolü olduğunu göstermiştir ve bu iki yaygın durumda da KVH prevalansı yüksektir (36). Wang ve ark. (37), hayvan modellerinde barsak mikrobiyotasıyla ilgili olan fosfatidilkolin-kolin metabolik yolağının aterogenezde potansiyel rolünü açıklamıştır. Trimetilamin-N-oksit (TMAO); bir kolin metabolitidir ve ana kaynağı yumurta, karaciğer, sığır ve domuz etidir. Lipid metabolizmasında ve hücre membranının yapısında yer almaktadır. Farelere, kolin ve TMAO diyet desteği verildiğinde ateroskleroz ile ilişkili multipl makrofaj süpürücü reseptörlerin sayısının arttığı görülmüştür.

Kemirgen model çalışmaları TMAO üretiminde, artmış makrofaj kolesterol birikiminde ve köpük hücre formasyonunda diyetle alınan kolin ve barsak mikrobiyotasının kritik rolünü

doğrulamıştır. Ateroskleroza yatkın farelerde barsak mikrobiyotasının baskılanması; diyetle alınan kolinin arttırdığı ateroskleroza inhibe etmiştir. Bu verilere dayanarak artmış plazma TMAO seviyesinin; artmış KVH riskini erken öngörebilmede potansiyel rolünün olduğu ileri sürülmüştür (37).

Kardiyovasküler hastalık geçmişi ve artmış açlık plazma TMAO seviyesi arasındaki ilişkiyi araştırmak için iki prospektif klinik çalışma yürütülmüştür. İlk çalışmada, bir önceki ay içinde antibiyotik veya probiyotik almamış sağlıklı gönüllülerde diyetle fosfatidilkolin uygulanmıştır. Daha sonra bir hafta antibiyotik (günde 2x500 mg metronidazol ve 1x500 mg siprofloksasin) tedavisinden hemen sonra ve antibiyotik tedavisinden bir ay/daha fazla süre geçtikten sonra sonra diyet tekrarlanmıştır. İlk olarak diyetle fosfatidilkolin verildikten sonra plazmada TMAO tespit edilmiştir. Ancak barsak mikrobiyotasının baskılanması bu etkileri ortadan kaldırmıştır. Antibakteriyel tedavinin tamamlanmasından bir ay sonra barsak mikrobiyotası yeniden oluşmuş ve fosfatidilkolin diyeti sonucu TMAO ve döteryum ile işaretlenmiş TMAO tespit edilmiştir. Wang ve ark. (37) tarafından yapılmış çalışmada, insanlarda oral fosfatidilkolin alımı ile barsak mikrobiyotasında TMAO üretimi ilişkilendirilmiştir. Ayrıca açlık plazma TMAO seviyesi uzun dönemde ölüm, MI veya inme gibi major advers kardiyovasküler olay (major adverse cardiovascular events: MACE) riski ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmada, yükselmiş plazma TMAO konsantrasyonu ile MACE riski tahmin edilebilmiştir. Yüksek TMAO seviyesine sahip hastalarda, MACE riski iki kat artmıştır. Böylece bu çalışmalarda, diyetle alınan fosfatidilkolinden ve barsak mikrobiyotasından üretilen TMAO'nun aterojenik öncülü bir madde olduğu gösterilmiştir. Başka çalışmalarda da kalp yetmezliği olan hastalarda, TMAO ile KVH riskinin tahmin edildiği gösterilmiştir (38). Diyetle alınan fosfatidilkolinin barsak mikrobiyotasına bağlı metabolizması ile KVH arasındaki ilişki; aterosklerotik kalp hastalığı patogenezi için yeni tanısal testler ve tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine fırsat

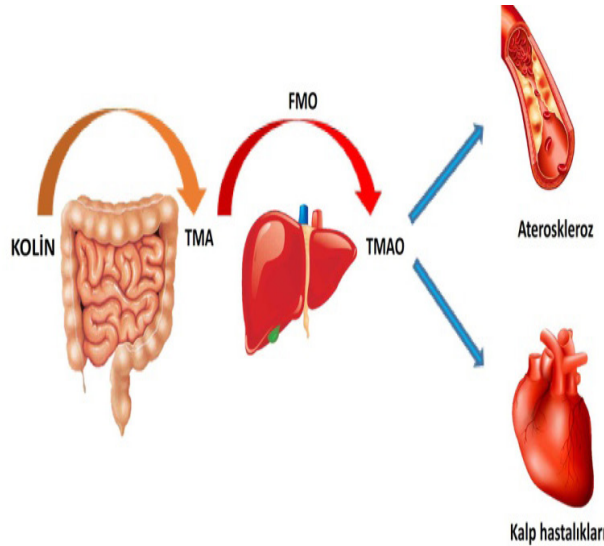
sağlamaktadır.

Tang ve ark. (39), tarafından elde edilmiş bulgularda da aterosjenik öncülü olan TMAO üretiminde barsak mikrobiyotasının rolü tanımlanmıştır. Özellikle diyetle alınan kolin ve L-karnitin barsak mikrobiyotası tarafından trimetilamine (TMA) metabolize edilmektedir. Trimetilamine daha sonra karaciğerde hepatik flavin monooksijenaz 3 (FMO3) ile TMAO'ya dönüştürülmektedir (Şekil 2). İlgili çekici bir şekilde kolinin veya TMAO'nun diyet desteği ters kolesterol transportunu (kolesterolün karaciğere alımını) azaltmaktadır ve farede ateroskleroza neden olan köpük hücrelerin dönüşümünü arttırmaktadır. Ateroskleroza eğilimli apolipoprotein E'den yoksun olan fareye yüksek TMAO üreten çekal mikrobiyotanın transferi sonucu aterogenezin şiddetlendiği görülmüştür. Ayrıca insanda da yükselmiş plazma TMAO seviyesi artması kardiyovasküler olay riski ile ilişkilendirilmiştir (40).

Obezite, insülin direnci, hiperglisemi, hiperlipidemi ve hipertansiyon toplu olarak metabolik sendrom olarak tanımlanmakta ve bu durum KVH

için önemli bir risk faktörüdür. Toll-like 5 reseptörü barsak mikrobiyotasının dengesi için gerekli olan bir reseptördür ve Toll-like reseptöründen yoksun olan farelerin (TLR5-KO) mikrobiyota bağımlı-metabolik sendroma yatkın olduğu görülmüştür. Böylece metabolik hastalıkların patogenezinde barsak mikrobiyotası-karaciğer aksının rolü olabileceği öne sürülmüştür (41).

Barsak mikrobiyotasının insan sağlığına yararlı etkileri olan son ürünleri de bulunmaktadır. Örneğin; barsak bakterileri tarafından üretilen KZYA (asetat, bütirat, propiyonat) karbon ve enerji kaynağı olarak konak tarafından kullanılmaktadır. Kısa zincirli yağ asitlerinin obezite, iştah ve kolonik inflamasyonun modülasyonu üzerindeki faydalı etkileri çok sayıda çalışmada belirtilmiştir (42, 43). Bunun yanı sıra artmış fekal KZYA; insanlarda metabolik sendrom ile pozitif olarak ilişkili bulunmuş ve TLR5-KO farelerde disbiyotik mikrobiyota tarafından KZYA'nın kontrolsüz üretiminin metabolik sendroma katkısı olduğu gösterilmiştir (41). Son zamanlarda yapılmış bir çalışmada, yüksek yağlı diyet ile beslenen



**Şekil 1.** Diyetle alınan kolinin metabolizması ve kardiyovasküler hastalık (KVH) ilişkisi  
Diyetle alınan kolin barsak mikrobiyotası tarafından trimetilamine (TMA) metabolize edilmektedir. Trimetilamine daha sonra karaciğerde hepatik flavin monooksijenaz 3 (FMO3) ile trimetilamin-N-okside (TMAO) dönüşmektedir. Trimetilamin-N-oksidin aterosjenik bir öncül olduğu ve KVH'a neden olabileceği öne sürülmektedir.

sıçanlarda obezite ile propiyonat/asetat üreten *Phascolarctobacterium*, *Proteus mirabilis* ve *Veillonellaceae*'nin miktarının pozitif korele olduğu gösterilmiştir (44).

Kardiyovasküler komplikasyonların en yaygın sebeplerinden biri aterosklerozdur. Koren ve ark. (32), insan aterosklerotik plaklardaki bakteriyel DNA'nın miktarının plaktaki mevcut lökositler ile korele olduğunu gözlemlemiştir. Ayrıca yükselmiş plazma kolesterolünün oral kavite ve barsaktaki bazı bakterilerin oranı ile korele olduğu bulunmuştur.

Kalp yetmezliği (KY) sonucu, barsakta meydana gelen konjesyonun barsak bariyerini değiştirdiği ve bu durumun da değişmiş barsak mikrobiyotası ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bozulmuş barsak bariyer fonksiyonu nedeniyle barsak bakterilerin translokasyonu ve endotoksin benzeri bileşiklerin salınımı artmaktadır ve bunlar dolaşımda yüksek miktarda tespit edilmektedir. Bu duruma, inflamatuvar yanıt ve oksidatif stres de artış eşlik etmektedir. Öte yandan barsak mikrobiyal metabolizmasının değişmesi sonucu meydana gelen barsak geçirgenliği, inflamasyon ve yağ birikimindeki artış metabolik bozukluklara neden olmakta ve konağın tüm metabolik sürecini etkilemektedir. Spesifik mikrobiyal kolinden trimetilamin-liyazlar aracılığı ile TMAO üretiminde barsak mikrobiyotasının zorunlu olduğu keşfedilmiştir (39). Yeni bir çalışmada, aynı cinsiyet ve aynı yaşta KY olmayan hastalar ile karşılaştırıldığında, KY olan hastalarda TMAO'nun anlamlı olarak daha yüksek seviyede olduğu görülmüştür. Yükselmiş plazma TMAO seviyesinin uzun-dönem sağkalımı kısalttığı da öne sürülmüştür (38). Kalp yetmezliği, hayvan modeli çalışmalarında da artmış diyet kolini veya TMAO alımı ile dolaşımdaki TMAO seviyeleri ve miyokard fibrözisi, fonksiyonel bozukluğu ve pulmoner ödeme neden olacak şekilde kalbin yeniden şekillenmesi durumu yani advers ventriküler remodeling (AVR) arasında direkt mekanistik ilişki olduğu gösterilmiştir (45).

Suzuki ve ark. (46) tarafından yapılmış bir kohort çalışmasında, akut dekompanze KY ile başvuran

hastaların 24 saat içinde TMAO seviyeleri tespit edilmiştir. İlerlemiş klinik profilli ve hastanede ölüm riski, tüm nedenlerden kaynaklı ölüm ve bir yılda toplam ölüm/KY oranı yüksek olan hastalarda TMAO seviyelerinin daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Konjesyonun (artmış juguler venöz gerilim, nefes darlığı, pulmoner ödem) intestinal bariyeri değiştirdiği ve bakteriyel translokasyonu potansiyel olarak kolaylaştırdığı gösterilmiştir (47). Ama AVR ve KY progresyonu üzerine potansiyel etkisine olan görüş sınırlıdır. Konjesyonun artmış TMAO seviyeleri ile ilişkili olduğu görülmüştür. Bu bulguların KY'de TMAO seviyelerinin artışının nedeninin anlaşılması ile KY progresyonunda barsak mikrobiyotasının katkısı hakkında önemli görüş sağlayacağı düşünülmektedir (48).

### **Kardiyovasküler Hastalıkların Profilaksisinde ve Tedavisinde Barsak Mikrobiyotasının Önemi**

Trimetilamin-N-oksit seviyesi ile advers prognostik sonuçların tahmin edebilmesi sayesinde, TMAO'nun KY gelişimi ve AVR'de potansiyel rolü olduğu öne sürülmüştür. Bununla uyumlu olarak hayvan modeli çalışmalarında, yüksek TMAO'nun (diyet kolini veya direkt TMAO) anlamlı bir şekilde AVR'yi arttırdığı görülmektedir. Böylece Suzuki ve ark. (46) sonuçları diğer çalışmalar ile birlikte TMAO seviyesini azaltan stratejilerin terapötik fayda sağlayabileceğini öne sürmektedir.

Öldürücü olmayan mikrobiyal enzim inhibitörü olan 3,3-dimetil-1-bütanol (DMB)'ün kolinden mikrobiyal TMA oluşumunu inhibe ettiği ve böylece TMAO üretiminin inhibisyonunun diyetle indüklenen ateroskleroza azalttığı gösterilmiştir (49). Trimetilamin-N-oksit içeren besinlerin miktarını azaltılarak diyet proteinlerinin modüle edilmesi gibi TMAO'yu azaltıcı alternatif stratejiler düşünülmektedir (48).

Karnitinin aza-analogu; diyetle alınan kuarterner aminlerin mikrobiyal degradasyon profilini değiştirerek aterojenik öncülü olan TMAO'nun üretimini baskılamaktadır. Trimetilamin-N-oksit

üretimini azaltmak için bu analoglardan (örneğin; meldonium) fayda sağlanabileceği ileri sürülmektedir (50). Ayrıca *Archaea* türleri barsakta TMA'yı inert moleküllere dönüştürmektedir, bu nedenle kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde *Methanomassiliococcus luminyensis* B10 uygulanabileceği düşünülmektedir (51).

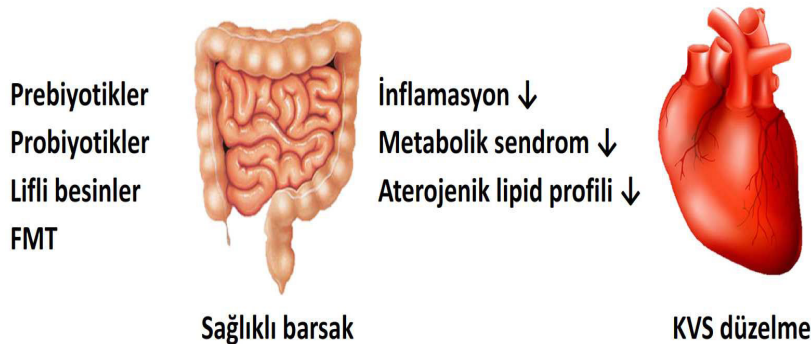
Barsak mikrobiyotası içeriğindeki terapötik değişimler, konağın sağlığını düzeltmesine rağmen barsak ortamı içindeki ani değişiklikler (antibiyotik alımı vs.) yarardan çok zarar verebilmektedir. Özellikle bebekte ilk altı ay boyunca antibiyotik kullanımı çocukluk obezitesi ile ilişkilendirilmiştir (52). Benzer sonuçlar farelerde de gözlemlenmiştir. Tedavi edici dozun altındaki (subterapötik) dozda verilen antibiyotik genç farelerde adipositeyi arttırmıştır (18). Normal koşullarda beslenmiş ApoE-KO fareler ile karşılaştırıldığında, standart düşük kolesterol ile ve GF koşullarda beslenmiş ApoE-KO farelerde ciddi ateroskleroz gelişmiştir. Bu durumda, mikrobiyota ve onun metabolitlerinin KVH'ya karşı koruyucu etkileri olduğunu desteklemektedir (53).

Tüm bu gözlemler ile terapötik girişim yapılırken sadece hastalık nedeni olan bakterilere odaklanılmamasını, aynı zamanda sağlığın sürdürülmesinde yararlı olan bakterilerin de

korunması gerektiği öne sürülmüştür. Kardiyovasküler hastalıkları azaltmak için yararlanılabilecek terapötik yaklaşımlar prebiyotik-probiyotik desteği ve fekal mikrobiyota transplantasyonu (FMT) şeklinde olabilir (Şekil 3) (54).

### Mikrobiyota İlişkili Tedavilerin Sınırlamaları

Kişiselleştirilmiş tüm tedaviler için sınırlamalar vardır. Genetik, spesifik diyet, ilaç alımı ve endojen mikrobiyota-mikrobiyota ilişkili tedavileri büyük oranda etkilemektedir. Bazı girişimler, bireysel hastalıklarla mücadelede etkisiz olurken aynı zamanda ek risk faktörlerine neden olabilmektedir. Belirli yenilikçi bakteriyel tedavi uygulamalarının ciddi hastalıklar ile savaşmada büyük potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir. Örneğin, FMT; *Clostridium difficile* enfeksiyonunun tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak bazı etkileri risk oluşturmaktadır. Alang ve Kelly (55) tarafından yayınlanmış bir olgu-kontrol çalışmasında, aşırı kilolu donörden FMT sonrasında alıcıda artmış kilo alımı raporlanmıştır. Fekal mikrobiyota transplantasyonu gibi mikrobiyota-araçlı tedavilerde güvenlik risklerini azaltmak ve konağın sağlığını korumak için önemli düzenlemeler gerekmektedir.



**Şekil 3.** Kardiyovasküler sistem (KVS) sağlığı için barsak mikrobiyotasının düzenlenmesi  
Prebiyotik, probiyotik ve lifli besinlerin tüketilmesi ve fekal mikrobiyota transplantasyonu (FMT) sonucu barsak mikrobiyotasında yararlı bakterilerin artırılarak inflamasyon, aterojenik lipid oluşumu gibi kardiyovasküler hastalık risk faktörlerinin azaltılabileceği ileri sürülmektedir.

## SONUÇ

Son yıllarda, barsak mikrobiyotası etkileyici yeni bir organ olarak tanımlanmıştır. Birçok intestinal ve ekstra-intestinal hastalıkla ilişkili olduğu keşfedilmiştir. Yeni sekanslama teknolojilerin gelişimi ile mikrobiyota bileşiminin tespiti ve barsak mikrobiyotası ve konak arasındaki etkileşimde potansiyel gen sayısının keşfedilmesini sağlanmıştır. Son verilerde obezite, diyabet ve aterosklerozda barsak mikrobiyotasının açıkça rolü olduğu gösterilmiştir. Barsak mikrobiyotasının; kardiyometabolik hastalık yolağını düzenlemede anahtar kapı olabileceği düşünülmektedir. Enerji homeostazi ve inflamasyon gibi yolakları etkileyen metabolik hastalıklarda da barsak mikrobiyotasının rol oynadığını gösteren önemli kanıtlar mevcuttur.

İnsan ve hayvanlarda yapılan metabolomik çalışmalar ve prospektif gözlemsel ile girişimsel çalışmaların tamamlanmasıyla yakın zamanda barsak

mikrobiyotasının rolü ve mikrobiyal yolaklar daha fazla tanımlanabilecektir. Bilimin bu yöndeki ilerleyişi yeni başlamış ve elde edilen birçok verinin hala tartışmalı olmasına karşın barsak mikrobiyotasının metabolik fonksiyonunun araştırılması umut vaat eden bilgiler sunmaktadır; barsak mikrobiyotasının düzenlenmesi KVH engellemek ve tedavi etmek için yeni bir hedef olarak görülmektedir. İnsan fizyolojisi ve hastalıkların anlaşılması için barsak mikrobiyotası bileşimi ve fonksiyonun keşfi henüz bir başlangıçtır; çeşitli prebiyotik ve probiyotiklerin klinik çalışmalarının yapılması ile gelecekte metabolik hastalıkların tedavisinde prebiyotik ve probiyotiklerden yarar sağlanabilecektir.

Fakat farklı insan popülasyonları arasındaki farklılıklar genelleştirilmiş terapötik yaklaşımların insanlarda işe yaramayacağını göstermektedir. Bu bağlamda, gelecekte barsak mikrobiyotasını hedef alan kişiselleştirilmiş tedaviler tasarlanabilecektir.

## KAYNAKLAR

1. Miele L, Giorgio V, Alberelli MA, De Candia E, Gasbarrini A, Grieco A. Impact of gut microbiota on obesity, diabetes, and cardiovascular disease risk. *Curr Cardiol Rep*, 2015; 17(12): 120.
2. Baothman OA, Zanzami MA, Taher I, Abubaker J, Abu-FarhaM. The role of gut microbiota in the development of obesity and diabetes. *Lipids Health Dis*, 2016; 15: 108.
3. Tlaskalová-Hogenová H, Stěpánková R, Kozáková H, Hudcovic T, Vannucci L, Tučková L, et al. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. *Cell Mol Immunol*, 2011; 8(2):110-20.
4. Ji B, Nielsen J. From next-generation sequencing to systematic modeling of the gut microbiome. *Front Genet*, 2015; 6: 219.
5. Makino H, Kushiro A, Ishikawa E, Kubota H, Gawad A, Sakai T, et al. Mother-to-infant transmission of intestinal bifidobacterial strains has an impact on the early development of vaginally delivered infant's microbiota. *PLoS One*, 2013; 8(11): e78331.
6. Shin NR, Whon TW, Bae JW. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. *Trends Biotechnol*, 2015; 33(9): 496-503.
7. Munyaka PM, Khafipour E, Ghia JE. External influence of early childhood establishment of gut microbiota and subsequent health implications. *Front Pediatr*, 2014; 2: 109.
8. Patterson E, Ryan PM, Cryan JF, Dinan TG, Ross RP, Fitzgerald GF, et al. Gut microbiota, obesity and diabetes. *Postgrad Med J*, 2016; 92(1087): 286-300.

9. Pacheco AR, Sperandio V. Enteric pathogens exploit the microbiota-generated nutritional environment of the gut. *Microbiol Spectr*, 2015; 3(3): doi: 10.1128/microbiolspec.MBP-0001-2014.
10. Marietta E, Rishi A, Taneja V. Immunogenetic control of the intestinal microbiota. *Immunology*, 2015; 145(3): 313-22.
11. Zhang M, Chekan JR, Dodd D, Hong PY, Radlinski L, Revindran V, et al. Xylan utilization in human gut commensal bacteria is orchestrated by unique modular organization of polysaccharide degrading enzymes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014; 111(35): E3708-17.
12. Kim MH, Kang SG, Park JH, Yanagisawa M, Kim CH. Short-chain fatty acids activate GPR41 and GPR43 on intestinal epithelial cells. *Gastroenterology*, 2013; 145(2): 396-406 e1-10.
13. Kimura I, Ozawa K, Inoue D, Imamura T, Kimura K, Maeda T, et al. The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short chain fatty acid receptor GPR43. *Nat Commun*, 2013; 4: 1829.
14. Kasubuchi M, Hasegawa S, Hiramatsu T, Ichimura A, Kimura I. Dietary gut microbial metabolites, short-chain fatty acids, and hostmetabolic regulation. *Nutrients*, 2015; 7(4): 2839-49.
15. Li T, Chiang JY. Bile acids as metabolic regulators. *Curr Opin Gastroenterol*, 2015. 31(2): 159-65.
16. Balmer ML, Slack E, de Gottardi A, Lawson MA, Hapfelmeier S, Miele L, et al. The liver may act as a firewall mediating mutualism between the host and its gut commensal microbiota. *Sci Transl Med*, 2014; 6(237): 237ra66.
17. Thuny F, Richet H, Casalta JP, Angelakis E, Habib G, Raoult D. Vancomycin treatment of infective endocarditis is linked with recently acquired obesity. *PLoS One*, 2010; 5(2): e9074.
18. Saari A, Virta LJ, Sankilampi U, Dunkel L, Saxen H. Antibiotic exposure in infancy and risk of being overweight in the first 24 months of life. *Pediatrics*, 2015; 135(4): 617-26.
19. Modi SR, Collins JJ, Relman DA. Antibiotics and the gut microbiota. *J Clin Invest*, 2014; 124(10): 4212-8.
20. Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjölund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PLoS One*, 2010; 5(3): e9836.
21. Brown K, DeCoffe D, Molcan E, Gibson DL. Diet-induced dysbiosis of the intestinal microbiota and the effects on immunity and disease. *Nutrients*, 2012; 4(8): 1095-119.
22. Pozo-Rubio T, Mujico JR, Marcos A, Puertollano E, Nadal I, Sanz Y, et al. Immunostimulatory effect of faecal Bifidobacterium species of breast-fed and formula-fed infants in a peripheral blood mononuclear cell/Caco-2 co-culture system. *Br J Nutr*, 2011; 106(8): 1216-23.
23. Jones ML, Martoni CJ, Prakash S. Cholesterol lowering and inhibition of sterol absorption by *Lactobacillus reuteri* NCIMB 30242: a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr*, 2012; 66(11): 1234-41.
24. Gibson GR, Probert HM, Loo JV, Rastall RA, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev*, 2004; 17(2): 259-75.
25. Rabiei S, Shakerhosseini R, Saadat N. The effects of symbiotic therapy on anthropometric measures, body composition and blood pressure in patient with metabolic syndrome: a triple blind RCT. *Med J Islam Repub Iran*, 2015; 29: 213.
26. Wu GD, Bushman FD, Lewis JD. Diet, the human gut microbiota, and IBD. *Anaerobe*, 2013; 24: 117-20.
27. Turnbaugh PJ, Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Knight R, Gordon JI. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Sci Transl Med*, 2009; 1(6): p. 6ra14.
28. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010; 107 (33): 14691-6.
29. Mika A, Van Treuren W, González A, Herrera JJ, Knight R, Fleshner M. Exercise is more effective at altering gut microbial composition and producing stable changes in lean mass in juvenile versus adult male F344 rats. *PLoS One*, 2015; 10(5): e0125889.
30. Miller MA, McTernan PG, Harte AL, Silva NF, Strazzullo P, Alberti KG, et al. Ethnic and sex differences in circulating endotoxin levels: A novel marker of atherosclerotic and cardiovascular risk in a British multi-ethnic population. *Atherosclerosis*, 2009; 203(2): 494-502.
31. Woźakowska-Kapłon B, Włosowicz M, Gorczyca-Michta I, Górska R. Oral health status and the occurrence and clinical course of myocardial infarction in hospital phase: a casecontrol study. *Cardiol J*, 2013; 20(4): 370-7.

32. Koren O, Spor A, Felin J, Fâk F, Stombaugh J, Tremaroli V, et al. Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011; 108 (Suppl 1): 4592-8.
33. Karlsson FH, Fâk F, Nookaew I, Tremaroli V, Fagerberg B, Petranovic D, et al. Symptomatic atherosclerosis is associated with an altered gut metagenome. *Nat Commun*, 2012; 3: 1245.
34. Andraws R, Berger JS, Brown DL. Effects of antibiotic therapy on outcomes of patients with coronary artery disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA*, 2005; 293(21): 2641-7.
35. Grayston JT, Kronmal RA, Jackson LA, Parisi AF, Muhlestein JB, Cohen JD, et al. Azithromycin for the secondary prevention of coronary events. *N Engl J Med*, 2005; 352(16): 1637-45.
36. Dumas ME, Barton RH, Toye A, Cloarec O, Blancher C, Rothwell A, et al. Metabolic profiling reveals a contribution of gut microbiota to fatty liver phenotype in insulin-resistant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006; 103(33): 12511-6.
37. Wang Z, Tang WH, Buffa JA, Fu X, Britt EB, Koeth RA, et al. Prognostic value of choline and betaine depends on intestinal microbiota-generated metabolite trimethylamine-N-oxide. *Eur Heart J*, 2014; 35(14): 904-10.
38. Tang WH, Wang Z, Fan Y, Levison B, Hazen JE, Donahue LM, et al. Prognostic value of elevated levels of intestinal microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide in patients with heart failure: refining the gut hypothesis. *J Am Coll Cardiol*, 2014; 64(18): 1908-14.
39. Tang WH, Wang Z, Levison BS, Koeth RA, Britt EB, Fu X, et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *N Engl J Med*, 2013; 368(17): 1575-84.
40. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, Buffa JA, Org E, Sheehy BT, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*, 2013; 19(5): 576-85.
41. Singh V, Chassaing B, Zhang L, San Yeoh B, Xiao X, Kumar M, et al. Microbiota-Dependent Hepatic Lipogenesis Mediated by Stearoyl CoA Desaturase 1 (SCD1) Promotes Metabolic Syndrome in TLR5-Deficient Mice. *Cell Metab*, 2015; 22(6): 983-96.
42. den Besten G, Bleeker A, Gerding A, van Eunen K, Havinga R, van Dijk TH, et al. Short-chain fatty acids protect against high-fat diet-induced obesity via a ppargamma-dependent switch from lipogenesis to fat oxidation. *Diabetes*, 2015; 64(7): 2398-408.
43. Frost G, Sleeth ML, Sahuri-Arisoylu M, Lizarbe B, Cerdan S, Brody L, et al. The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nat Commun*, 2014; 5: 3611.
44. Lecomte V, Kaakoush NO, Maloney CA, Raipuria M, Huinao KD, Mitchell HM, et al. Changes in gut microbiota in rats fed a high fat diet correlate with obesity-associated metabolic parameters. *PLoS One*, 2015; 10(5): e0126931.
45. Organ CL, Otsuka H, Bhushan S, Wang Z, Bradley J, Trivedi R, et al. Choline diet and its gut microbe-derived metabolite, trimethylamine n-oxide, exacerbate pressure overload-induced heart failure. *Circ Heart Fail*, 2016; 9(1): e002314.
46. Suzuki T, Heaney LM, Bhandari SS, Jones DJ, Ng LL. Trimethylamine N-oxide and prognosis in acute heart failure. *Heart*, 2016; 102(11): 841-8.
47. Sandek A, Bauditz J, Swidsinski A, Buhner S, Weber-Eibel J, von Haehling S, et al. Altered intestinal function in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 2007; 50(16): 1561-9.
48. Tang WW, Hazen SL. Dietary metabolism, gut microbiota and acute heart failure. *Heart*, 2016; 102(11): 813-4.
49. Wang Z, Roberts AB, Buffa JA, Levison BS, Zhu W, Org E, et al. Non-lethal inhibition of gut microbial trimethylamine production for the treatment of atherosclerosis. *Cell*, 2015; 163(7): 1585-95.
50. Kuka J, Liepinsh E, Makrecka-Kuka M, Liepins J, Cirule H, Gustina D, et al. Suppression of intestinal microbiota-dependent production of proatherogenic trimethylamine N-oxide by shifting L-carnitine microbial degradation. *Life Sci*, 2014; 117(2): 84-92.
51. Brugère JF, Borrel G, Gaci N, Tottey W, O'Toole PW, Malpuech-Brugère C. Archaeobiotics: proposed therapeutic use of archaea to prevent trimethylaminuria and cardiovascular disease.
52. Trasande L, Blustein J, Liu M, Corwin E, Cox LM, Blaser MJ. Infant antibiotic exposures and early life body mass. *Int J Obes (Lond)*, 2013; 37(1): 16-23.
53. Stepankova R, Tonar Z, Bartova J, Nedorost L, Rossman P, Poledne R, et al. Absence of microbiota (germ-free conditions) accelerates the atherosclerosis in ApoE-deficient mice fed standard low cholesterol diet. *J Atheroscler Thromb*, 2010; 17(8): 796-804.
54. Singh V, Yeoh BS, Vijay-Kumar M. Gut microbiome as a novel cardiovascular therapeutic target. *Curr Opin Pharmacol*, 2016; 27: 8-12.
55. Alang N, Kelly CR. Weight gain after fecal microbiota transplantation. *Open Forum Infect Dis*, 2015; 2(1): ofv004.



## TELİF HAKKI DEVRİ / COPYRIGHT RELEASE



**HALK SAĞLIĞI GENEL MÜDÜRLÜĞÜ / GENERAL DIRECTORATE OF PUBLIC HEALTH**  
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi / Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

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

Makale Türü/Article Type:

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

Makale Başlığı/Article Entitled : .....

Sayın Editör,

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

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

Dear Editor,

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

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

(...1) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

(...2) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

(...3) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

(...4) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

(...5) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

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

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

**HALK SAĞLIĞI GENEL MÜDÜRLÜĞÜ / GENERAL DIRECTORATE OF PUBLIC HEALTH**

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

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

Tel/Phone : +90 312 565 55 80

Faks/Fax : +90 312 565 55 91

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

