

ALIŞVERİŞ MERKEZLERİ İÇİN İÇ ORTAM BİYOAEROSOL ARAŞTIRMASI

Esra TATLI
Ferhat KARACA
Zeynep AYDIN
Fahri AKBAŞ

ÖZET

Bu çalışmanın amacı insanların zamanlarının birçoğunu geçirdikleri alışveriş merkezlerinde biyoaerosol örnekleme yaparak patojen bakteri konsantrasyonlarının araştırılması ve kalıcı etkisinin azaltılmasında alınması gereken tedbirlerin belirlenmesidir. Bu kapsamda İstanbul'da bulunan ve ülkemizdeki en büyük alışveriş merkezleri arasında sayılan iki ayrı alışveriş merkezlerinin her bir katında bakteri konsantrasyonunu belirlemek için hafta içi ve hafta sonu günlerinde biyoaerosol örnekleme yapılmıştır. Örnekleme sürecinde toplanan biyoaerosol numuneleri Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (Polymerase Chain Reaction - PCR) yöntemi kullanılarak değerlendirilmiş, patojen bakteri tür ve miktarları belirlenmiştir. Elde edilen bulgular ulusal ve uluslararası standartlara göre değerlendirilmiştir ve bu bakterilerin insan sağlığına olan etkileri standartlara göre değerlendirilmiştir.

Anahtar Sözcükler: İç ortam hava kalitesi, Alışveriş Merkezleri, Bakteri, PCR.

ABSTRACT

The purpose of the study is to investigate the concentrations of pathogenic bacteria by sampling bioaerosol at two different shopping centers in Istanbul and to determine what measures should be taken to reduce the effect of permanently. In this context, to determine the concentration of bacteria samples each floor of two different shopping centers in Istanbul were done. Bioaerosol samples were evaluated using Polymerase Chain Reaction (PCR) method, type and amount of pathogenic bacteria were determined. The findings are discussed in terms of national and international standards and are evaluated according to the standards of these bacteria and their effects on human health.

Key Words: Indoor Air Quality, Shopping Centers, Bacteria, PCR

1. GİRİŞ

İnsanlar zamanlarının birçoğunu ofis, alışveriş merkezleri gibi kapalı mekânlarda geçirmektedirler. Maruz kaldıkları kirlilik konsantrasyonu düşünüldüğünde soludukları hava düşündürür derecedir. Bakteri türleri toksik etkileri açısından son derece önemlidir. Havada çeşitli partiküllere tutunarak asılı kalan mikroorganizmalar hem iç ortamda hem de dış ortamda bulunmaktadır. İç ortamda bulunan kişiler ve bina yapısından kaynaklı olarak mikrobiyolojik çeşitlilik gözlenmektedir (Pessi ve Ark., 2000). Biyoaerosoller patojenik olabilirler veya solunum yoluyla alerjik etkiye sahip olabilirler (Kalogerakis ve Ark, 2005). Pseudomonas aeruginosa (PSA) insan ve hayvanlarda hastalığa neden olan yaygın bakteridir. Bu bakterinin varlığı fırsatçı patojen simgesidir. Kolonilerin akciğer gibi kritik vücut organlarında, böbrek ve idrar yollarında ortaya çıkması durumunda ölümlerle karşılaşılabilir (Balcht ve

Ark., 2004). *Micrococcus luteus* bakterisi ise kapalı ortam havasında bulunmaktadır. Bazı çalışmalar *Micrococcus luteus* bakterisinin iç ortamlarda yüksek sayıda bulunduğunu göstermektedir (Pastuszka ve Ark., 2000).

2. METOD & MATERYAL

Deneylerde Kullanılan Cihazlar

Biyolojik Hava Örnekleyicisi; HRTECH® model FSC- IV
Otoklav; Nuve®, model OT 012
İnkübatör; Incu Cell® model 55
Koloni Sayım Cihazı; Comecta SA®
PCR; VWR®
Jel Elektroferez

Örnekleme

İstanbul'da iki ayrı alışveriş merkezlerinin iç ortamında hafta içi ve hafta sonu her bir katında örnekleme yapılmıştır. Yaklaşık olarak 60 biyoaerosol örneği alınmıştır. Biyoaerosol örneklemesinde NIOSH (National Institute of Occupational Safety and Health) Method-0800 'Bioaerosol Sampling (Indoor Air)' kullanılmıştır. Metotta önerilen örnekleyici yerine bu örnekleyicinin eşdeğeri olan FSC-IV model biyolojik hava örnekleyicisi cihazı kullanılmıştır. Bu cihaz iki kısımda tasarlanmıştır. Baş kısmı kaide ve benzin pompası olmak üzere jet deliklerinden oluşan kısım, diğer kısmı denetleyici ve pil kısmını içerir. Cihaz yüksek kaliteli alüminyumdan oluşmuştur. Bu metodla mikrobiyolojik canlıların tespiti mümkündür. Bakteri türlerinin tespitinde toz halinde bulunan Tryptic Soy Agar kullanılmıştır. Hazırlama şartlarına göre besiyerleri laboratuarda hazırlanarak otoklavda sterilizasyonu sağlandıktan sonra petri kaplarına konulmuştur.



Şekil 1. Biyolojik Hava Örnekleyici (HRTECH®)

İç ortam havası 4 dakika süre ile agar üzerine alınmıştır. Numuneler 37°C' de inkübatörde 24 saat bekletilmiştir. Koloni sayıcı ile petri kapları üzerindeki bakteri kolonileri sayılmıştır. Belirlenen bakteri türleri için primerleri alınarak her bir örneğe PCR işlemi uygulanmıştır.

Tablo 1. Bakterilerin PCR İçin Kullanılan Nükleotid Primerleri.

Primer	Diziler	Primer Uzunluğu	Sıcaklık (°C)	PCR ürününün uzunluğu (bp)
MLU	Forward: 5-TCTCGATCGCCGTAGAGATACGGT-3	24	57 °C	150 Bp
	Reverse: 5-ATGGAACGAGGGTTGCGCTCG-3	21		155 Bp
PSA	Forward: 5-ACGTCCTACGGGAGAAAGCAGGG-3	23	56 °C	250 Bp
	Reverse: 5-TCTTCACACACGCGGCATGGC-3	21		255 Bp

94°C, 2 dk ilk denatürasyon

94°C, 30 s denatürasyon

62°C, 30 s annealing

72°C, 2.5 dk uzatma

72°C, 5 dk son uzatma

x 30 döngü

PCR döngüsünde DNA zincirinin yüksek sıcaklıkta birbirinden ayrılmasından sonra (denatürasyon), oligonükleotidler hedef DNA'ya bağlanır (annealing) ve zincirin yeni çift zincirli DNA oluşturacak şekilde uzaması (extension) aşamalarından meydana gelmektedir. PCR işlemine başlamadan önce eppendorf tüplerine karışımı hazırlanır. Bunun için 2,5 µl Primer, 2,5 µl buffer, 2 µl dNTPs, 0,2 µl Tag, 1,5 µl MgCl₂ karışım hazırlanmıştır. Daha sonra %1'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülmüştür.

3.SONUÇ

Bu çalışmada *Pseudomonas aeruginosa* ve *Micrococcus luteus* gibi 2 bakteri primerleri ile çalışılmıştır. İki ayrı alışveriş merkezlerinin her bir katında alınan örnekleme sonuçlarına göre bakterilerin bulunduğu katlar ve noktaları Tablo 2 ve 3'te gösterilmektedir.

Tablo 2. Alışveriş Merkezi_A'da Bulunan Bakteri Konsantrasyonları ve Türleri

Alışveriş Merkezi_A						
Bulunduğu Kat	HAFTA İÇİ (Çarşamba)			HAFTA SONU (Pazar)		
	Bioaerosol (cfu/mL)	BAKTERİ		Bioaerosol (cfu/mL)	BAKTERİ	
		Psa	Mlu		Psa	Mlu
1.Kat 1. Nokta	12	+	+	14	+	+
1.Kat 2. Nokta	34	+	+	4	+	+
2.Kat 1. Nokta	32	-	-	74	-	-
2.Kat 2. Nokta	12	-	-	32	-	-
Yemek Katı 1. Nokta	8	-	-	10	-	-
Yemek Katı 2. Nokta	40	-	-	22	-	-
Yemek Katı 3. Nokta	36	-	-	10	-	-
Yemek Katı 4. Nokta	38	+	+	14	+	+
3.Kat 1. Nokta	52	+	+	10	+	+
3.Kat 2. Nokta	22	-	-	10	-	-

Psa: Pseudomonas aeruginosa, Mlu: Micrococcus luteus , + Var, - Yok

Tablo 3. Alışveriş Merkezi_B'de bulunan bakteri konsantrasyonları ve türleri

Alışveriş Merkezi_B						
Bulunduğu Kat	HAFTA İÇİ (Çarşamba)			HAFTA SONU (Pazar)		
	Bioaerosol (cfu/mL)	BAKTERİ		Bioaerosol (cfu/mL)	BAKTERİ	
		Psa	Mlu		Psa	Mlu
1.Kat 1. Nokta	28	-	-	202	-	-
1.Kat 2. Nokta	102	+	+	106	-	-
1.Kat 3. Nokta	244	-	-	238	+	+
2.Kat 1. Nokta	168	-	-	38	-	-
2.Kat 2. Nokta	222	-	-	252	+	+
2.Kat 3. Nokta	194	-	-	150	+	+
3.Kat 1. Nokta	208	-	-	60	+	+
3.Kat 2. Nokta	38	+	+	24	+	+
3.Kat 3. Nokta	152	-	-	322	-	-
3.Kat 4. Nokta	156	-	-	320	+	+
Yemek Katı 1. Nokta	120	-	-	296	+	+
Yemek Katı 2. Nokta	112	-	-	340	+	+
Yemek Katı 3. Nokta	94	-	-	378	+	+
Yemek Katı 4. Nokta	52	-	-	254	-	-

Psa: Pseudomonas aeruginosa, Mlu: Micrococcus luteus , + Var, - Yok

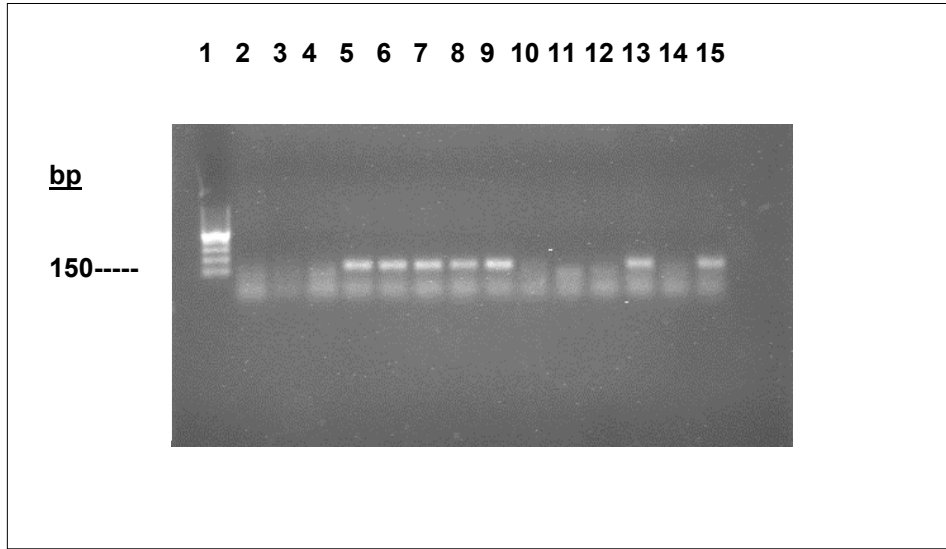
Örnekler hafta içi ve hafta sonu günlerinde Alışveriş merkezlerinin her bir katında, en az iki noktada olmak üzere toplanmıştır. Toplanan bakteri örnekleri inkübatörde geliştirildikten sonra koloni sayım

cihazında sayılmıştır. Alışveriş Merkezlerinin her bir katında yapılan örnekleme sonuçlarına göre bakteri kolonileri hava şartlarına göre belirli bölgelerinde gözlenmiştir.

Alışveriş Merkezi_A sonuçlarına göre her bir katın her bir noktasında bakteri kolonileri 8-74 cfu/ml arasında değişiklik göstermektedir. Alışveriş Merkezi_B sonuçlarına göre ise koloni yoğunluğu 24-378 cfu/ml arasında değişmektedir. İç ortamdaki biyoaerosollerin kaynakları hem iç hem de dış ortamda bulunabilmektedir.

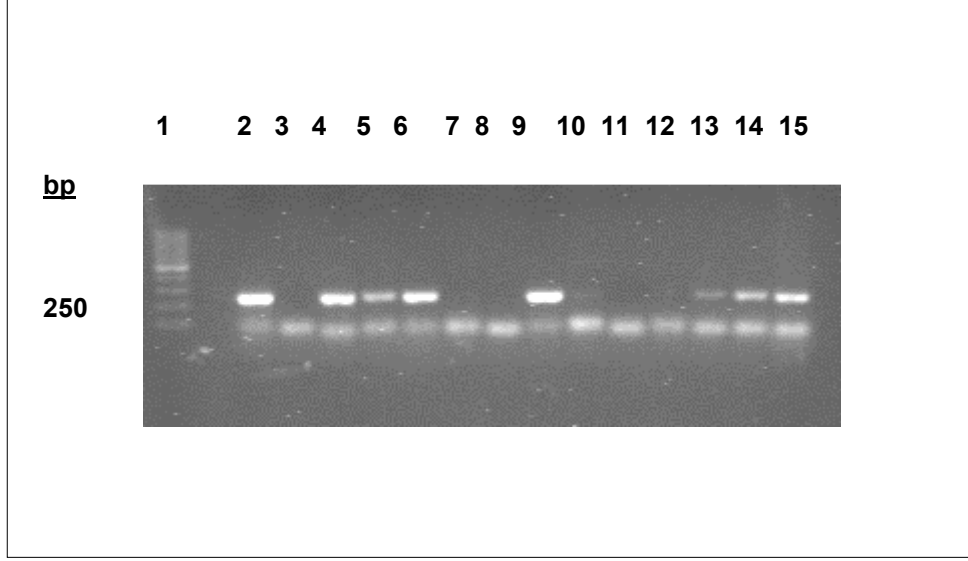
Alışveriş merkezi_A'da 1. katın her bir noktasında bakteri gözlenmiş ve bu koloniler *Pseudomonas aeruginosa* ve *Micrococcus luteus* bakterilerini içermektedir. 2. Katta bakteri kolonileri gözlenmiş ancak seçilen bakteriler bu katta bulunmamaktadır. Yemek katında ise seçilen ilk üç noktada seçilen bakteriler bulunmamasına rağmen 4. noktada her iki bakteri grubu da bulunmaktadır. Yemek katının bu noktasındaki kirliliğin hava kompozisyonunu kolayca değiştirebilen yanma olaylarından kaynaklı olduğunu açıklayabiliriz. 3. Katın ilk noktasında seçilen bakteri türleri gözlenmiş ancak 2. noktasında bu bakterilere rastlanmamıştır. Hava şartları sabit değildir ve hava kirliliği kolayca değişebilir.

Alışveriş merkezi B'de 1.katın hafta içi ve hafta sonu günlerinde bakteri kolonileri gelişmiş ancak bazı noktalarında seçilen bakteriler gözlenmemiştir. Hafta sonu gününde 1 ve 2. noktada seçilen bakteriler yok iken, 3. noktada bakteriler gözlenmiştir. Hafta içi gününde sadece 2. noktada seçilen bakteri kolonileri gelişmiştir. Bu durum 1. katın hava şartlarının eşit olmadığını ve kirlenici kaynaklarının belirli bölgelerde gelişebildiğini göstermektedir. Hafta içi gününde yapılan örnekleme sonuçları hafta sonu yapılan sonuçlara göre değişiklik göstermektedir. *Pseudomonas aeruginosa* ve *Micrococcus luteus* bakterileri hafta sonu gününde daha fazla gözlenmektedir. Bu durum insan popülasyonunun yoğunluğu ile açıklanabilir. Sabit olmayan hava kompozisyonu kolayca değişmektedir.



Şekil 2. PCR Amplifikasyonu Sonrası *Micrococcus Luteus* (150 Bp) Bakterisinin 14 Ayrı Noktadaki Sonucu.

Şekil 2'ye göre, 1.çizgi marker'dır. Örneklerimizin bazıları 2-15 çizgi boyutunda gözlenmektedir. PCR ürünün boyu yaklaşık olarak 150 bp'dir. Bakteri PCR sonucuna göre, alışveriş merkezlerinde toplanan örneklerden 14'ünün 7'sinde gözlemlendiği bir şekildedir. Hafta içi ve hafta sonu günlerinde seçilen toplam 48 noktadan 19 noktada *Micrococcus luteus* bakterisi gözlenmektedir.



Şekil 3. PCR Amplifikasyonu Sonrası *Pseudomonas Aeruginosa* (250 Bp) Bakterisinin 14 Ayrı Noktadaki Sonucu.

Şekil 3'e göre, 1.çizgi marker'dır. Alışveriş merkezlerinde toplanan örneklerimizin bazıları 2-15 çizgi boyutunda gözlenmektedir. PCR ürünün boyu yaklaşık olarak 250 bp'dir ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin 14 ayrı noktadaki sonucu gözlenmektedir. Bakteri PCR sonucuna göre, belirli noktalarda bu bakteri grubuna rastlanırken diğer noktalarda bulunmamaktadır. Toplam yoğunluğa bakıldığı zaman *Pseudomonas aeruginosa* bakterisi hafta sonu günlerinde alışveriş merkezlerinin seçilen noktalarında daha fazla yoğunluk göstermektedir.

KAYNAKLAR

- [1] NIOSH (National Institute of Occupational Safety and Health) Metod 0800, Biyoaerosol Sampling (Indoor Air).
- [2] KALOGERAKIS, N., PASCHALI, D., LEKADITIS, V., PANTIDOU, A., ELEFTHERIADIS, K., LAZARIDIS, M., Indoor air quality-bioaerosol measurements in domestic and office premises, *Aerosol Science*, Vol. 36, pp. 751-761, 2005.
- [3] PESSI A., SUONKETO J, PENTTI M, KURKILAHTI M, RANTIO- LEHTIMAKI, A. Microbial growth in insulation of external walls: Modeling the indoor air biocontamination sources. *Proceedings of Healthy Buildings 3*: 295–300, 2000
- [4] BALCHT, ALDONA, & SMITH, *Pseudomonas aeruginosa: Infections and Treatment*, Informa Health Care, pp. 83–84, Raymond, 1994.
- [5] PASTUSZKA, J. S., THA PAW, U. K., LIS, D., WLAZLO, A., ULFIG, K., Bacterial and fungal aerosol in indoor environment in Upper Silesia, Poland, *Atmospheric Environment*, Vol. 34, pp. 3833-3842, 2000.

ÖZGEÇMİŞ

ESRA TATLI

1985 yılı İstanbul doğumludur. 2008 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Samsun Biyoloji Bölümünü bitirmiştir. Fatih Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümünde Yüksek Lisansını 2010 yılında bitirmiştir.

2008–2010 Yılları arasında TUBİTAK Proje Asistanı olarak görev yapmıştır. İç Ortam Hava kirliliği ile ilgili çalışmalar yapmaktadır.

Ferhat KARACA

1974 yılı Kastamonu doğumludur. 1995 yılında YTÜ, İnşaat Fakültesi, İnşaat Mühendisliği Bölümünü bitirmiştir. Aynı Üniversiteden 2005 yılında Doktor unvanını almıştır. Yüksek Lisans Eğitimini ise 2000 yılında Fatih Üniversitesi Çevre Mühendisliği bölümünde tamamlamıştır. Fatih Üniversitesinde 1997 yılında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başlamış, aynı üniversitede 2000–2005 yıllarında Öğretim Görevliliği yapmış ve 2005 yılından beri Yrd. Doç. Dr. olarak görev yapmaktadır. Hava Kirliliği, Hava Kirliliği Kontrolü, İç Ortam Hava Kalitesi ve Çevresel Verilerin Modellenmesi konularında çalışmaktadır. Ulusal ve uluslararası alanlarda yapılmış birçok çalışma ve yayını bulunan yazar evli ve iki çocuk babasıdır.

Zeynep AYDIN

1987 de Edirne de doğdu. İstanbul üniversitesi Biyoloji ve Moleküler biyoloji ve Genetik bölümünden 2009 yılında lisansını tamamladı. 2010 yılında Fatih üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik bölümünde yüksek lisansa ve araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladı. Burada Rekombinant DNA teknolojisi ve moleküler biyoloji alanında çalışmalar yapmaktadır. Bakteriyel ve ökaryotik sistemlerde klonlama, gen ekspresyonu, hücre kültürü gibi yöntemlerin uygulandığı çeşitli projelerde çalışmaktadır. Halen Fatih Üniversitesinde çalışmaktadır.

Fahri AKBAŞ

1968 yılında Tekirdağ'da doğdu. İstanbul Üniversitesi CTF Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü'nden 1990 yılında lisansını tamamladı. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik Bölümü'nde 1993 yılında yüksek lisansını tamamladı. 1993'te İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladı. Burada, çeşitli genetik hastalıklarda moleküler tanı yöntemlerinin uygulanması ve geliştirilmesi konularında çalıştı. 2000 yılında "Huntington hastalığı ve Miyotonik distrofide dinamik mutasyonların moleküler tanısı" isimli tezi ile doktorasını tamamladı. 2004 yılında doktora sonrası çalışma için bir yıllığına Florida Atlantic University (Florida, ABD)'ye gitti ve moleküler biyoloji uygulamalarındaki bilgilerini geliştirdi. 2007 yılında Fatih Üniversitesi'nde yeni kurulan Genetik ve Biyomühendislik Bölümü'ne geçti. Halen yardımcı doçent olarak burada görev yapmaktadır.

Bakteriyel ve ökaryotik sistemlerde klonlama, gen ekspresyonu, hücre kültürü gibi yöntemlerin uygulandığı çeşitli projelerde çalışmaktadır.