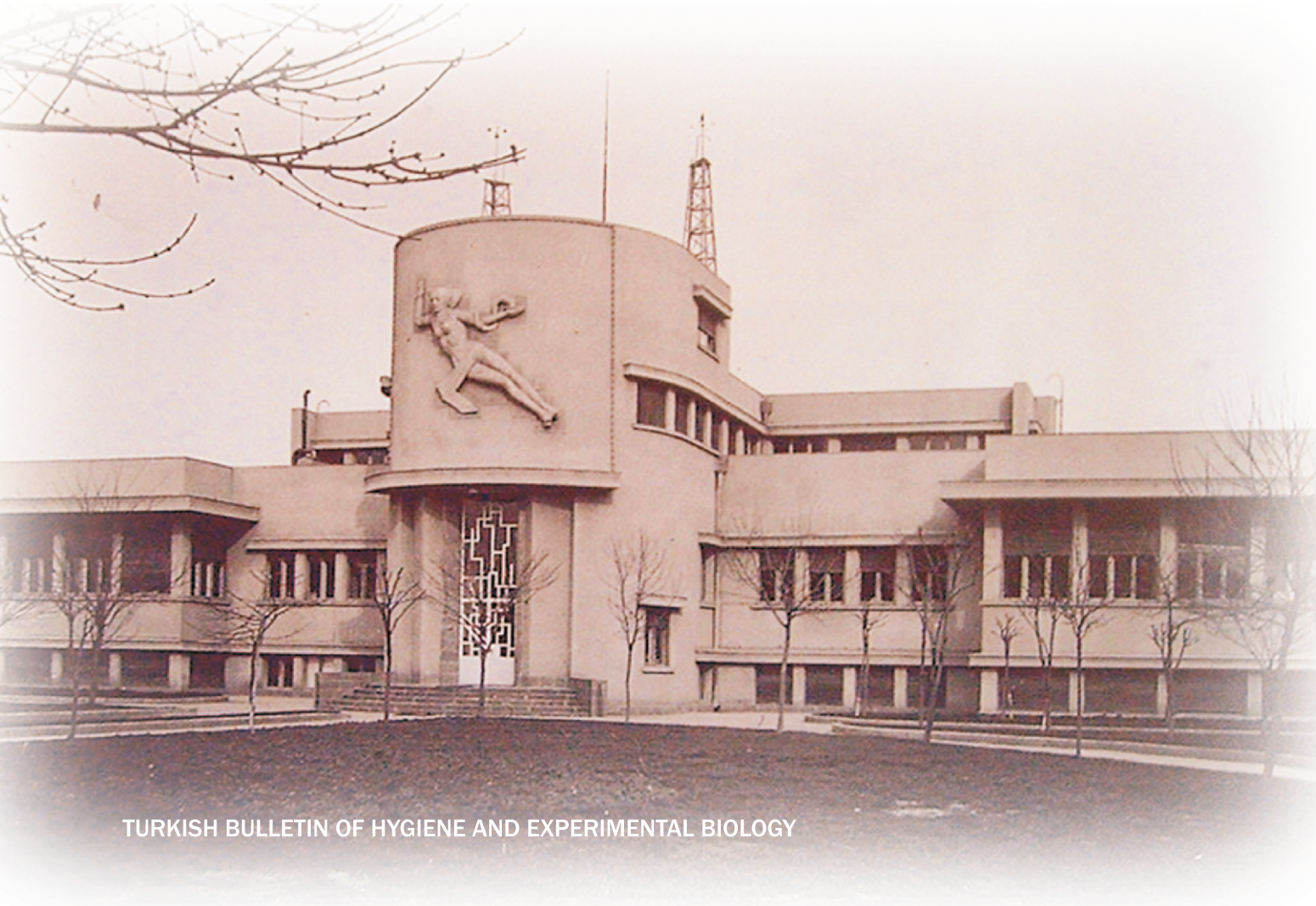




T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
REFİK SAYDAM HIFZISSİHHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 68 ■ Sayı/Number 3 ■ Yıl/Year 2011







**T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
REFİK SAYDAM HIFZISSİHHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI**

THE MINISTRY OF HEALTH OF TURKEY  
REFİK SAYDAM NATIONAL PUBLIC HEALTH AGENCY

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

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 68 ■ Sayı/Number 3 ■ Yıl/Year 2011

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  
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı adına  
On behalf of Refik Saydam National Public Health Agency

**Başkan Prof. Dr. Mustafa ERTEK**  
Prof. Dr. Mustafa ERTEK, President

### EDİTÖR / EDITOR IN CHIEF

Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN

### EDİTÖR YARDIMCILARI / DEPUTY EDITORS

Demet CANSARAN-DUMAN  
Yavuz UYAR

### YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Sühendan ADIGÜZEL  
Fatih BAKIR  
Mehmet Kürşat DERİCİ  
Mestan EMEK  
Arsun ESMER  
Sibel KARACA  
Pınar KAYNAR  
Özcan ÖZKAN  
Pınar ÜNAL  
Gerard A. van ZOELLEN

### TEKNİK YÖNETMEN / TECHNICAL MANAGER

Nevzat IŞIK

### TEKNİK KURUL / TECHNICAL BOARD

Murat BAYRAM  
Murat DUMAN  
Hasan KAYA  
Zeynep KÖSEOĞLU  
Selahattin TAŞOĞLU

**REFİK SAYDAM HIFZISSİHHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI**  
**REFIK SAYDAM NATIONAL PUBLIC HEALTH AGENCY**  
**ANKARA-TÜRKİYE**

Yılda dört kez yayınlanır / Published four times per year  
Asitsiz kağıt kullanılmıştır / Acid free paper is used

**Tasarım - Dizgi / Design - Editing :**  
RSHMB / RSNPHA  
Yayın ve Dokümantasyon  
Müdürlüğü / Department of  
Publication and Documentation

**Baskı ve Cilt / Press and Binding :**  
Alka Matbaacılık  
Kazım Karabekir Cad. No: 7/11 İskitler-Ankara  
Tel: 0312 342 30 28  
e-posta: alka.orhan@gmail.com

**Yayın Türü / Type of Publication :**  
Yerel Süreli Yayın / Periodical Publication

**Basım Tarihi / Date of Publication :**  
Ekim 2011 / October 2011

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

## TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

### BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Adil ALLAHVERDİYEV, Yıldız Tek. Üniv., Kimya Fak., İstanbul

Ahmet ÇARHAN, Türk Akreditasyon Kurumu, Ankara

Ahmet KART, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Akçahan GEPDİREMEN, Abant İzzet Baysal Üniv., Tıp Fak., Bolu

Ali ALBAY, GATA, Ankara

Ali MİRAZİMİ, Swedish Inst. for Infect. Dis. Control, Sweden

Alper AKÇALI, 18 Mart Üniv., Tıp Fak., Çanakkale

Anna PAPA, Aristotle Univ., Medical School, Thessaloniki, Greece

Aşkın YAŞAR, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara

Ayhan FİLAZİ, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara

Aykut ÖZKUL, Ankara Üniv., Vet Fak., Ankara

Ayşen GÜNEL-ÖZCAN, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Aziz SANCAR, Univ. North Carolina, Dep Bipchem & Biophysics, USA

Bahadır GÖNENÇ, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara

Banu ÇAKIR, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Berrin ESEN, RSHMB, Ankara

Bülent ALTEN, Hacettepe Üniv., Fen Fak., Ankara

Celal GÖKÇAY, ODTÜ, Çevre Müh., Ankara

Çağatay GÜLER, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Daniel MOTLHANKA, Botswana College of Agriculture, Botswana

Delia Teresa SPONZA, Dokuz Eylül Üniv., Çevre Müh., İzmir

Diler ASLAN, Pamukkale Üniv., Tıp Fak., Denizli

Doğan YÜCEL, Ankara Eğ. & Arş. Hast., Ankara

Dürdal US, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Dwight D. BOWMAN, Cornell Univ., College of Vet. Med., USA

Ender YARSAN, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara

Fatih KÖKSAL, Çukurova Üniv., Tıp Fak., Adana

Gönül ŞAHİN, Hacettepe Üniv., Eczacılık Fak., Ankara

Gülberk UÇAR, Hacettepe Üniv., Eczacılık Fak., Ankara

Gülnur TARHAN, Ahievran Üniv., Sağlık MYO, Kırşehir

Hakan LEBLEBİCİOĞLU, 19 Mayıs Üniv., Tıp Fak., Samsun

Haluk VAHABOĞLU, Kocaeli Üniv., Tıp Fak., Kocaeli

Hürrem BODUR, Numune Eğ. & Arş. Hast., Ankara

İşıl MARAL, Gazi Üniv., Tıp Fak., Ankara

Iva CHRISTOVA, NCIPD, Sofia, Bulgaria

İ.Mehmet Ali ÖKTEM, Dokuz Eylül Üniv., Tıp Fak., İzmir

İrfan EROL, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara

İsmail CEYHAN, RSHMB, Ankara

Johan LINDH, Swedish Ins. for Infections Dis. Cont., Sweden

Kosta Y. MUMCUOĞLU, Hebrew Univ., Hadassah Med. Sch. Israel

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

## TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

### BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Levent AKIN, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Mahinur AKKAYA, ODTÜ, Kimya Müh., Ankara

Manfred WEIDMANN, Göttingen Univ., Virology Ins., Germany

Mehmet Ali ONUR, Hacettepe Üniv. Fen Fak., Ankara

Metin KORKMAZ, Ege Üniv., Tıp Fak., İzmir

Mithat ŞAHİN, Kafkas Üniv., Vet. Fak., Kars

Murat DİZBAY, Gazi Üniv., Tıp Fak., Ankara

Murat GÜLMEZ, Kafkas Üniv., Vet. Fak., Kars

Murat GÜNAYDIN, 19 Mayıs Üniv., Tıp Fak., Samsun

Murat HÖKELEK, 19 Mayıs Üniv., Tıp Fak., Samsun

Murat ÖZSAN, Ankara Üniv., Tıp Fak., Ankara

Mustafa KAVUTÇU, Gazi Üniv., Tıp Fak., Ankara

Mükerrem KAYA, Atatürk Üniv., Ziraat Fak., Erzurum

Nazmi ÖZER, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Nilay ÇÖPLÜ, RSHMB, Ankara

Nur Münevver PINAR, Ankara Üniv., Fen Fak., Ankara

Oğuz GÜRSOY, Pamukkale Üniv., Gıda Müh., Denizli

Orhan BAYLAN, GATA, Ankara

Orhan YILMAZ, KBB, Dışkapı Eğ. & Arş. Hast., Ankara

Osman GÜNAY, Erciyes Üniv., Tıp Fak., Kayseri

Paul HEYMAN, Queen Astrid Military Hospital, Belgium

Pauline MWINZI, Medical Research Inst., Kenya

Pınar OKYAY, Adnan Menderes Üniv., Tıp Fak., Aydın

Rahmet ÇAYLAN, Atatürk Eğ. & Arş. Hast., Ankara

Recep AKDUR, Ankara Üniv., Tıp Fak., Ankara

Recep ÖZTÜRK, İstanbul Üniv., Cerrahpaşa Tıp Fak., İstanbul

Rıza DURMAZ, İnönü Üniv., Tıp Fak., Malatya

Roberto Canete VILLAFRANCA, Centre for Hygiene, Cuba

S. Aykut AYTAÇ, Hacettepe Üniv., Gıda Müh., Ankara

Saim ŞAHİNÖZ, Gümüşhane Üniv., Sağlık Yük. Okulu, Gümüşhane

Sami AYDOĞAN, Erciyes Üniv., Tıp Fak., Kayseri

Sema BURGAZ, Gazi Üniv., Eczacılık Fak., Ankara

Sercan ULUSOY, Ege Üniv., Tıp Fak., İzmir

Sıraç DİLBER, Karolinska Univ., Medical School, Sweden

Suzan ÖZTÜRK-YILMAZ, Sakarya Üniv., Müh. Fak., Sakarya

Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Celal Bayar Üniv., Tıp Fak., Manisa

Takashi AKAMATSU, Prof. Emeritus, Japan

Tevfik PINAR, Kırıkkale Üniv., Tıp Fak., Kırıkkale

Yesim ÖZBAŞ, Hacettepe Üniv. Gıda Müh., Ankara

Yeşim ÇETİNKAYA-ŞARDAN, Hacettepe Üniv., Tıp Fak., Ankara

Yeşim TUNÇOK, Dokuz Eylül Üniv., Tıp Fak., İzmir

Zafer KARAER, Ankara Üniv., Vet. Fak., Ankara



## TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ YAZIM KURALLARI

Dergide yayınlanmak üzere gönderilen makaleler, 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 çevrimiçi olarak yapılabilir.

Gönderilen yazılarda aşağıdaki kurallar aranır:

1- "Telif hakkı devir formu" (Copyright Release Form) tüm yazarlarca imzalanarak onaylandıktan sonra Dergimize iletilmelidir. Bu forma [www.turkhijyen.org](http://www.turkhijyen.org) adresinden ulaşılabilir.

2- Başlık sayfasında makale başlığı, İngilizce başlık, kısa başlık, yazar adları, çalışılan kurumlara ait birimler, yazışma işini üstlenen yazarın açık adresi, telefon numaraları (sabit ve cep), elektronik posta adresi belirtilmelidir:

- Yazının başlığı kısa olmalı ve büyük harfle yazılmalıdır.
- Sayfa başlarına konan kısa başlık 40 karakteri geçmemelidir.
- Akademik unvan kullanılmadan meslek unvanı belirtilebilir.
- Makale birden fazla yazar tarafından yazılmış ise, aynı ünite çalışan yazarların kurumlarının sıralaması göz önünde bulundurularak soyadları sonuna numara verilmelidir (Örnek; Duman 1, Yılmaz 2, Çetin 1, .....).
- Çalışma bilimsel bir kuruluş ve/veya fon ile desteklenmişse dipnot veya teşekkür bölümünde mutlaka belirtilmelidir.
- 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 Türkçeye özen gösterilmeli ve Türkçe kaynak kullanımına önem verilmelidir.

4- Metin içinde geçen Latince mikroorganizma isimleri ilk kullanıldığında tam ve açık yazılmalı, daha sonraki kullanımda 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 yazılmalıdır. Antibiyotik isimleri uluslararası standartlara uygun olarak kısaltılmalıdır.

5- Metin içerisinde bahsedilen birimlerin sembolleri "The Système International" (SI)'e göre verilmelidir.

6- Yazar bir zorunluluk olmadıkça "mişli geçmiş" zaman edilgen kip ile yazılmalıdır.

7- Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, yazarlardan araştırma ve yayın etiğine uyumlu olmasını istemektedir. İnsan araştırmalarında, 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. Yerel etik kurullarına sahip olmayan yazarlar, Helsinki Bildirgesinde ([www.wma.net/e/policy/pdf/17c.pdf](http://www.wma.net/e/policy/pdf/17c.pdf)) ana hatlarını çizilen ilkeleri izlemelidirler. Yazarlar, bu tür bir çalışma söz konusu olduğunda, uluslararası alanda kabul edilen kılavuzlara ve "İlaç Araştırmaları Hakkında Yönetmelik" ve daha sonra yayınlanan diğer yönetmelik ve yazılarda belirtilen hükümlere uyulduğunu belirtmeli ve kurumdan aldıkları "Etik Kurul Onayı"nı göndermelidirler.

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

9- Hasta kimliğini tanıyacak fotoğraf kullanıldığında, hastanın yazılı onayı gönderilmelidir.

10- Makale yazımında dikkat edilecek hususlar şunlardır:

a) **Araştırma yazıları;** Türkçe Özet, İngilizce Özet, Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma ve Kaynaklar bölümlerinden oluşmalıdır. Bu bölümler, sola yaslanacak şekilde büyük harflerle kalın yazılmalıdır. İngilizce makalelerde Türkçe Başlık ve Özet bulunmalıdır.

**Türkçe Özet:** Amaç, Yöntem, Bulgular ve Sonuç alt başlıklarından oluşmalıdır (yapılandırılmış özet) ve en az 250, en fazla 400 sözcük içermelidir. Kısa raporlarda sözcük sayısı en az 100, en fazla 200 olmalıdır.

**İngilizce Özet (Abstract):** Başlığı İngilizce olmalıdır. Türkçe Özet bölümünde belirtilenleri birebir karşılayacak şekilde "Objective, Method, Results, Conclusion" olarak yapılandırılmalıdır.

**Anahtar Sözcükler:** Türkçe ve İngilizce özetlerin altında verilmelidir. Anahtar kelime sayısı 3-8 arasında olmalı ve Tıp Konuları Başlıkları (Index Medicus Medical Subject Headings-MeSH)'nda yer alan sözcükler kullanılmalıdır. MeSH için şu internet adresine başvurulabilir: [www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html](http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html)

**Giriş:** Araştırmanın amacı, benzer çalışmalarda ilgili literatür bilgisi kısaca sunulmalı ve iki sayfayı aşmamalıdır.

**Gereç ve Yöntem:** Araştırmanın gerçekleştirildiği kuruluş ve tarih belirtilmeli, araştırmada kullanılan araç, gereç ve yöntem açıkça sunulmalıdır. İstatistiksel yöntemler açıkça belirtilmelidir.

**Bulgular:** Sadece elde edilen bulgular açık bir şekilde belirtilmelidir.

**Tartışma:** Bu bölümde, araştırmanın sonunda elde edilen bulgular, diğer araştırmacıların bulgularıyla karşılaştırılmalıdır. Araştırmacı, kendi yorumlarını bu bölümde aktarmalıdır.

**Teşekkür Bölümü:** Teşekkür bölümü, ana metnin sonunda kaynaklardan hemen önce yer almalı ve bir paragrafı geçmemelidir.

**Kaynaklar:** Yazarlar kaynakların eksiksiz ve doğru yazılmasından sorumludur. Kaynaklar, metnin içinde geçiş sırasına göre numaralandırılmalıdır. Numaralar, parantez içinde cümle sonlarında verilmelidir. Kaynakların yazılımı ile ilgili aşağıda örnekler verilmiştir. Daha detaylı bilgi için "Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals" (J Am Med Assoc 1997; 277: 927-934) (<http://www.nejm.org/general/text/requirements/1.htm>) bakılmalıdır.

**Süreli yayın:** Yazar(lar)ın Soyadı Adının baş harf(ler)ini (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.

• Standart dergi makalesi için örnek: Demirci M, Ünlü M, Şahin Ü. A case of hydatid lung cyst diagnosed by kinyoun staining of bronco-alveolar fluid. *Türkiye 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)ini. Kitabın adı. Kaçınca baskı olduğu. Basım yeri: Yayınevi, Basım yılı.

• Örnek: Eiser 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)ini. Bölüm başlığı. In: Editör(ler)in soyadı adının başharf(ler)ini ed/eds. Kitabın adı. Kaçınca 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 ile birlikte parantez içinde bilgiye ulaşılan tarih de belirtilmelidir. Web erişimli makalelerin referans olarak metin içinde verilmesi gerektiğinde DOI (Digital Object Identifier) numarası verilmesi şarttır.

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

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

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

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

b) **Derleme türü yazılarda;** tercihen 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 sözcük içermelidir) ve anahtar sözcükler bulunmalıdır.

c) **Olgu sunumlarında;** metin yedi sayfayı, kaynak sayısı 20'yi aşmamalıdır. Türkçe ve İngilizce olarak başlık, özet (en az 100, en fazla 200 sözcük) ve anahtar sözcükler ayrıca giriş, olgu ve tartışma bölümleri bulunmalıdır.

d) Daha önce yayımlanmış yazılara eleştiri getirmek, katkıda bulunmak ya da bilim haberi niteliği taşıyacak bilgilerin iletilmesi amacıyla yazılan yazılar, Yayın Kurulunun inceleme ve değerlendirmesinin ardından "Editöre Mektup" bölümünde yayınlanır. Bu yazıların bir sayfayı aşmaması ve en fazla beş kaynakla desteklenmesi gerekmektedir.

11- Bu kurallara uygun olmayan metinler kabul edilmez.

12- Yazarlar teslim ettikleri yazının bir kopyasını saklamalıdır.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi  
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı  
Yayın ve Dokümantasyon Müdürlüğü

Tel : (0312) 458 23 64

Faks : (0312) 458 24 08

e-posta : [turkhijyen@rshm.gov.tr](mailto:turkhijyen@rshm.gov.tr)

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

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

Manuscripts are sought according to the following rules:

1- The "Copyright transfer form" (Copyright Release Form) should be sent to the Journal and signed by all authors. This form can be downloaded from [www.turkhijyen.org](http://www.turkhijyen.org)

2- The title page should consist of the article title, English title, short title, author name(s), names of the institutions and the departments of the authors, full address, telephone numbers (fixed and mobile) and mail address of the correspondence author:

- The title should be short and in capital.
- The short title should not exceed 40 characters.
- Occupational titles can be stated without the use of academic titles.
- If the article is written by multiple authors and the authors working in the same Department, than according to their institutional orders, numbers should be given after their surname (e.g., Duman1, Yılmaz2, Çetin1, .....).
- Studies supported by a fund or organisation must be mentioned in a footnote or in the acknowledgements.

f) Articles presented in a conference / symposia must be mentioned with the type of presentation in footnotes or in the acknowledgements.

3- 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*. Genus names like staphylococcus and streptococcus that had settled into our language can be written in Turkish. Names of antibiotics should be written as they are read in terms of language integrity. Names of antibiotics should be abbreviated in accordance with international standards.

5- Symbols of the units mentioned in the text should be given 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- The Turkish Journal 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 method. 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 ([www.wma.net/e/policy/pdf/17c.pdf](http://www.wma.net/e/policy/pdf/17c.pdf)) should have been followed. Authors, who do not have a local ethics committee, should declare that they have followed

the internationally accepted guidelines, the "Pharmaceutical Research and Regulation" legislation and other related regulations.

8- 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.

9- 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.

10- When writing an article the following items should be considered:

a) Research papers should consist of Turkish abstract, English abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion and References section. These sections should be written in bold capital letters and aligned left. English articles should have a Turkish abstract and title in Turkish.

Turkish abstracts should be structured and consist of subheadings (Objective, Methods, Results and Conclusion) and at least have 250 words, and should contain no more than 400 words. Short reports should have at least 100, maximum 200 words.

English abstract: The title should be in English, and structured like the Turkish abstract (Objective, Methods, Results, and Conclusion).

Key words: Should be given under Turkish and English abstracts.

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. These MeSH terms can be found at the following Internet address: <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>

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

**Material and Method:** The date of the study and institution that performed the study, and materials and methods should be clearly presented. Statistical methods should be clearly stated.

**Results:** The findings should be stated clearly.

**Discussion:** In this section, the study findings should be compared with findings of other researchers. Investigators should mention their comments in this section.

Acknowledgements should be placed at the end of the main text and before the references, and should not exceed more than one paragraph.

**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, Unlu M, Sahin U. A case of hydatid cyst diagnosed by kinyoun staining of lung bronco-alveolar fluid. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 2001; 25 (3): 234-5.

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

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

**Books:** Surname of the author(s) initial name(s) of author(s). The name of the book. The edition number. Place of publication: Publisher, Publication year.

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

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

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

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

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

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

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

**Figure and Tables:** Each table or figure should be printed on a separate sheet, the top and bottom lines and if necessary column lines must be included. Tables should be numbered like "Table 1." and the table title should be written above the top line of the table. Explanatory information should be given in footnotes, not in the title and appropriate icons (\*,+,++, etc.) should be used. Photos should be in "jpeg" format and at least 300 dpi. In case the quality of the photos is not good for publication, the originals can be requested.

b) 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 (at least 250 words, no more than 400 words) and key words.

c) Case reports should have a maximum of seven pages of text and the number of references should not exceed 20. Case report should have a Turkish and English title, abstract (minimum 100, maximum 200 words), keyword(s) and also introduction, case description and discussion sections should be given.

d) Letters written to make criticisms, contributions or to give news related to previously published articles will be published in the "Letters to the Editor" section after review and assessment of the Editorial Board. Letters should not exceed one page of text and must be supported with up to five references.

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

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

Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology  
Refik Saydam National Public Health Agency  
Department of Publication and Documentation

Tel : +90 312 458 23 64 Fax : +90 312 458 24 08 e-mail : [turkhijyen@rsh.m.gov.tr](mailto:turkhijyen@rsh.m.gov.tr)



# TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

## YAYIN İLKELERİ

- Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı yayın organıdır. Dergi üç (3) ayda bir çıkar ve dört (4) sayıda bir cilt tamamlanır.
- Dergide mikrobiyoloji, immünoloji, farmakoloji, toksikoloji, parazitoloji, entomoloji, biyokimya, gıda güvenliği, çevre sağlığı, halk sağlığı, epidemiyoloji, patoloji, fizyopatoloji, moleküler biyoloji ve genetik ile ilgili alanlardaki özgün araştırma, olgu sunumu, derleme, editöre mektup türündeki makaleler Türkçe ve İngilizce olarak yayımlanır.
- Dergide, daha önce başka yerde yayınlanmamış ve yayınlanmak üzere başka bir dergide inceleme aşamasında olmayan makaleler yayımlanır.
- Dergi Yayın Kurulu ve Bilimsel Danışma Kurulu tarafından uygun görülen yazılar, konu ile ilgili en az iki Bilimsel Danışma Kurulu Üyesinden olumlu görüşü alındığında yayımlanmaya hak kazanır. Bu kurulların, yazının içeriğini değiştirmeyen her türlü düzeltme ve kısaltmaları yapma yetkileri vardır.
- Yazıların bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazarlarına aittir.
- Yazarlar araştırma ve yayın etiğine tam olarak uyum göstermelidir.
- Dergide yayınlanan 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'e uygun) verildi.
  - Tüm kısaltmalar gözden geçirildi ve standart olmayan kısaltmalar düzeltilti.
  - 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 Journal of Hygiene and Experimental Biology, is a publication of the Refik Saydam National Public Health Agency. The Journal is published every other three months and one volume consist of four numbers.
- The journal publishes microbiology, immunology, pharmacology, toxicology, parasitology, entomology, biochemistry, food safety, environmental health, public health, epidemiology, pathology, pathophysiology, molecular biology and genetics in the field of original research, case reports, reviews, and letters to the editor. Articles are published in Turkish and English.
- Articles which are not previously published in another journal or are not currently under evaluation elsewhere can be published in the journal.
- Articles approved by the Scientific Committee and Editorial Board are eligible to be released when received 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 should obey the ethics of research and publication.
- The copyright of the article published in the Bulletin of Experimental Hygiene 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;

CABI Index		Ulrichsweb and Serials Solutions	
Chemical Abstracts Service (CAS)		TURK MEDLINE	
DOAJ		Türkiye Atıf Dizini	
Index Copernicus		Genamics JournalSeek	
Google Scholar		NewJour	
Open J-Gate		TUBİTAK-ULAKBİM	
Academic Journals Database		BASE	
Scirus Scientific Database		Ovid LinkSolver	
Libsearch			

tarafından dizinlenmektedir.

The Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology (Turk Hij Den Biyol Derg) is indexed in CAB Abstracts, Index Copernicus, Google Scholar, DOAJ (Directory of Open Access Journals), Open J-Gate, CAS (Chemical Abstracts Service), Ulrichsweb and Serials Solutions, NewJour, Genamics JournalSeek, Academic Journals Database, Scirus Scientific Database, Libsearch, BASE, Ovid LinkSolver, TUBİTAK-ULAKBİM, TÜRKİYE ATIF DİZİNİ and TURK-MEDLINE.

İLETİŞİM

Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı  
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi  
Yayın ve Dokümantasyon Müdürlüğü

Sağlık Mah. Adnan Saygun Cad. No: 55 06100 Sıhhiye/ANKARA  
Tel: 0312 458 23 64 <http://www.rshm.gov.tr>  
Faks: 0312 458 24 08 e-posta: [turkhijyen@rshm.gov.tr](mailto:turkhijyen@rshm.gov.tr)

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

CORRESPONDENCE

Refik Saydam National Public Health Agency  
Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology  
Department of Publication and Documentation

Sağlık Mah. Adnan Saygun Cad. No: 55 06100 Sıhhiye/ANKARA-TURKEY  
Tel: +90 0312 458 23 64 <http://www.rshm.gov.tr>  
Fax: +90 0312 458 24 08 e-mail: [turkhijyen@rshm.gov.tr](mailto:turkhijyen@rshm.gov.tr)

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



### ■ Araştırma Makalesi

- 1. Riskli hastalarda metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığının belirlenmesinde hızlı tanı testlerinin değerlendirilmesi** 115 - 121  
Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Melek SAKARYA, Hörü GAZİ, Talat ECEMİŞ, Semra KURUTEPE
- 2. Van İli içme sularının *Cryptosporidium* spp. ookistleri yönünden incelenmesi** 122 - 126  
Mutalip ÇİÇEK, Hanifi KÖRKOCA, Önder AKKAŞ
- 3. Akut koroner sendromda troponin T ve troponin I** 127 - 134  
Mehmet AVCIKÜÇÜK, Fatih BAKIR, Canan TOPÇUOĞLU, Ali GÜÇTEKİN

### ■ Olgu Sunumu

- 4. Bitki çayı (*Teucrium chamaedrys*) alımına bağlı gelişen bir akut hepatit olgusu** 135 - 138  
Onur URAL, Özgür SATILMIŞ, Gaye URAL, Nebahat DİKİCİ

### ■ Derleme

- 5. Anadolu ve Balkan Yarımadası'nda Kırım Kongo kanamalı ateşi (KKKA)'nin güncel durumu** 139 - 151  
Yavuz UYAR, Iva CHRISTOVA, Anna PAPA
- 6. Kanser hastalarında farmakogenetik uygulamaları ve farmakoekonomi** 152 - 164  
Yasemin BASKIN, Gizem ÇALIBAŞI



## CONTENTS

### ■ Original Article

- 1. Evaluation of rapid tests for determination of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* carriage in high risk patients** 115 - 121  
Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Melek SAKARYA, Hörü GAZİ, Talat ECEMİŞ, Semra KURUTEPE
- 2. Investigation for *Cryptosporidium* spp. oocysts of drinking water in Van** 122 - 126  
Motalip ÇİÇEK, Hanifi KÖRKOCA, Önder AKKAŞ
- 3. Troponin T and troponin I at acut coronary sendrom** 127 - 134  
Mehmet AVCIKÜÇÜK, Fatih BAKIR, Canan TOPÇUOĞLU, Ali GÜÇTEKİN

### ■ Case Report

- 4. A case: Acute hepatitis associated with herbal (*Teucrium chamaedrys*) ingestion** 135 - 138  
Onur URAL, Özgür SATILMIŞ, Gaye URAL, Nebahat DİKİCİ

### ■ Review

- 5. Current situation of Crimean Congo hemorrhagic fever (CCHF) in Anatolia and Balkan Peninsula** 139 - 151  
Yavuz UYAR, Iva CHRİSTOVA, Anna PAPA
- 6. Pharmacogenetic applications and in pharmacoconomics in cancer patients** 152 - 164  
Yasemin BASKIN, Gizem ÇALIBAŞI

# Riskli hastalarda metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığının belirlenmesinde hızlı tanı testlerinin değerlendirilmesi

## Evaluation of rapid tests for determination of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* carriage in high risk patients

Süheyla SÜRÜCÜOĞLU<sup>1</sup>, Melek SAKARYA<sup>2</sup>, Hörü GAZİ<sup>1</sup>, Talat ECEMİŞ<sup>1</sup>, Semra KURUTEPE<sup>1</sup>

### ÖZET

**Amaç:** Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de mortalitesi yüksek hastane kökenli enfeksiyonlara yol açan bir bakteridir. Hastanelerde MRSA kaynağı sıklıkla MRSA ile kolonize veya enfekte hastalar ve MRSA taşıyıcısı sağlık çalışanlarıdır. Günümüzde MRSA taraması amacı ile kullanılan klasik kültür yöntemlerinin geç sonuç vermesi nedeniyle, taşıyıcıların saptanmasında hızlı ve güvenilir tanı yöntemlerine giderek daha fazla ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada riskli hastalarda MRSA taşıyıcılığının belirlenmesinde CHROMagar'ın ve moleküler yöntemlerden GeneOhm MRSA gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunun (PZR) kullanılabilirliği değerlendirilmiştir.

**Yöntem:** Celal Bayar Üniversitesi Hastanesi Yoğun Bakım Üniteleri'nde tedavi edilmekte olan ve MRSA enfeksiyonu için risk taşıyan 131 hasta ve bu hastalar ile temas eden 46 sağlık personeli olmak üzere toplam 177 kişiden burun sürüntüsü örneği alınmıştır. Kültür yöntemi olarak koyun kanlı agara ve CHROMagar'a doğrudan ekim yöntemi ve triptik soy broth'da zenginleştirme yapıldıktan sonra CHROMagar'a aktarma ekimi kullanılmıştır. PZR yöntemi üretici firmanın önerilerine uygun olarak Smart Cycler II hızlı DNA amplifikasyon sistemi ile çalışılmıştır.

### ABSTRACT

**Objective:** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a bacterium that causes hospital-acquired infections with high mortality in our country as well as all over the world. Source of MRSA in hospitals are often patients who are colonized or infected with MRSA and health care employees who are carriers of MRSA. Nowadays, because of the delayed screening results of conventional culture methods used for detecting MRSA carriers, it is more and more needed to have fast and reliable diagnostic methods. This study evaluated the usability of GeneOhm MRSA real-time polymerase chain reaction (PCR), a molecular method, and CHROMagar in the determination of MRSA carriage among the patients at risk of MRSA carriage.

**Method:** Nasal swap samples were taken from a total of 177 subjects, 131 patients who were undergoing treatment in the Intensive Care Units of Celal Bayar University Hospital at high risk for MRSA infection and 46 medical personnel in contact with these patients. With regard to culture, direct inoculation to sheep blood agar, direct inoculation to CHROMagar and inoculation to CHROMagar after enrichment in trypticase soy broth were used. The PCR method was performed with the Smart Cycler II rapid DNA amplification system in accordance with the manufacturer's recommendations.

<sup>1</sup> Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MANİSA

<sup>2</sup> Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, MANİSA

İletişim / Corresponding Author : Süheyla SÜRÜCÜOĞLU

Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MANİSA

Tel : +90 236 233 19 20

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

Geliş Tarihi / Received : 14.03.2011

Kabul Tarihi / Accepted : 20.07.2011

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2011.88156

Sürücüoğlu S, Sakarya M, Gazi H, Ecemiş T, Kurutepe S. Riskli hastalarda metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığının belirlenmesinde hızlı tanı testlerinin değerlendirilmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2011; 68 (3): 115-21.

**Bulgular:** Geleneksel kültür yöntemi olan koyun kanlı agara ekilen örneklerin %15,3'ünde, kromojenik agara yapılan ekimlerin %18,6'sında, zenginleştirilmiş besiyerinde bekletildikten sonra kromojenik agara ekilen örneklerin %20,3'ünde MRSA ürettiği görülmüştür. Araştırmada en duyarlı (%97,3) ve özgül (%100) kültür yöntemi olarak triptik soy broth'un kullanıldığı zenginleştirme yöntemi bulunmuştur. En hızlı kültür yöntemi olan kromojenik agara doğrudan ekim yönteminin duyarlılığı %89,2, özgüllüğü %100 olarak değerlendirilmiştir. GeneOhm MRSA PZR'nin duyarlılığı (%97,3) ve özgüllüğü (%100) ise zenginleştirme yöntemi ile benzer bulunmuştur.

**Sonuç:** Testlerin sonuçları ve maliyetleri göz önüne alınarak, riskli hastaların aktif sürveyans taramalarında ön zenginleştirme de triptik soy broth kullanılarak veya doğrudan ekim yapılarak kromojenik agarın kullanılabilceği düşünülmüştür.

**Anahtar Sözcükler:** MRSA, taşıyıcılık, kültür, kromojenik agar, polimeraz zincir reaksiyonu

**Results:** It was determined that MRSA grew in 15.3% of the specimen inoculated to sheep blood agar, the classical culture method, and in 18.6% of the specimen inoculated to chromogenic agar while it grew in 20.3% of the specimens inoculated to chromogenic agar after enrichment. Results showed that enrichment trypticase soy broth yielded the highest sensitivity (97.3%) and specificity (100%). It was evaluated that the fastest method was the method of direct inoculation to chromogenic agar with sensitivity and specificity of 89.2% and 100%, respectively. With 97.3% sensitivity and 100% specificity, GeneOhm MRSA PCR was comparable to enrichment method.

**Conclusion:** Taking into account the test results and costs, it would be suggested that the chromogenic agar with direct incubation or pre-enrichment in tryptic soy broth can be used for the surveillance screening of the patients at high risk.

**Key Words:** MRSA, carrier, culture, chromogenic agar, polymerase chain reaction

## GİRİŞ

Günümüzde metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'un (MRSA) neden olduğu hastane enfeksiyonları birçok ülkede önemli bir sorun olarak varlığını sürdürmektedir. MRSA oranları ülkeden ülkeye, bölgeden bölgeye ve hatta kurumlar arasında büyük farklılıklar göstermektedir. Çeşitli merkezlerin çalışmaları incelendiğinde hastane enfeksiyonu etkeni olarak MRSA'nın %70'lere varan sıklıkta olduğu, yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) ise %50'nin altına inmediği, hatta %100'e vardığı görülmektedir (1, 2).

Hastanelerde MRSA kaynağı sıklıkla MRSA ile kolonize veya enfekte hastalar ve MRSA taşıyıcısı sağlık çalışanlarıdır (3). Hastane kaynaklı MRSA için yüksek risk taşıyan hasta grupları; 65 yaşın üstünde, ameliyat olan, çok sayıda invaziv girişim uygulanan, geniş spektrumlu uzun süre antibiyotik kullanan, hastanede kalış süresi uzayan veya tekrarlayan hastane yatışları olan hastalar olarak tanımlanmaktadır.

MRSA taraması amacı ile geleneksel besiyerlerinin kullanıldığı kültüre dayalı yöntemler 48 ila 96 saat aralığında sonuçlanmaktadır (4-6). Ancak bu süre kontrol önlemlerinin gecikmesine neden olmaktadır. Aktif sürveyans kültür programları için kullanılmakta olan herhangi bir tarama testinin 24 saat içinde sonuç vermesinin programın başarısı için önemli olduğu düşünülmektedir (7). Bu nedenle son yıllarda hızlı ve güvenilir tanı yöntemlerine ilişkin araştırmalar hız kazanmıştır.

Bu araştırmanın amacı nozokomiyal MRSA enfeksiyonlarının önlenmesi için yüksek risk grubundaki hastalarda ve bu hastalar ile temas eden sağlık personeline taşıyıcıların belirlenmesi için kullanılan hızlı tanı testlerini karşılaştırmak ve güvenilirliklerini belirlemektir. Araştırmada kültüre dayalı ve hızlı sonuç veren seçici kromojenik besiyerlerinin yanı sıra real-time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) temeline dayanan MRSA tanı testi kullanılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmada Nisan 2009-Haziran 2010 döneminde Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Yoğun Bakım Ünitelerinde (YBÜ) tedavi edilmekte olan ve MRSA enfeksiyonu için risk taşıyan hastaların ve bu hastalar ile temas eden sağlık personelinin burun sürüntü örnekleri incelenmiştir. Çalışma protokolü Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Hasta grubunu 65 yaşın üstünde, ameliyat olan, çok sayıda invaziv girişim uygulanan, geniş spektrumlu uzun süre antibiyotik kullanan, hastanede kalış süresi uzayan veya tekrarlayan hastane yatışları olan hastalar oluşturmuştur. Daha önce MRSA taşıyıcılığı veya enfeksiyonu tanısı ile tedavi edilmiş/edilmekte olan hastalar ve sağlık personeli çalışma dışında tutulmuştur. Hastaların YBÜ'ye yatışlarından en az 48 saat sonra bir kez burun sürüntü örnekleri alınmıştır. Benzer şekilde sağlık personelinden de bir kez örnek alınmıştır.

Seçilen hastalardan steril pamuklu silgeçler yardımı ile her iki burun deliğinden üçer sürüntü örneği taşıma besiyeri içine alınmıştır. Bakterioloji Laboratuvarına ulaştırılan sürüntü örneklerinin birinden doğrudan kromojenik besiyerine (CHROMagar MRSAII, BD Diagnostics, Sparks, MD) ve geleneksel kültür yöntemi için %5 koyun kanlı agara (Salubris AŞ, Türkiye) ekim yapılarak her iki plak 35°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda kromojenik agarda üreyen eflatun renkli koloniler seçilmiş ve lateks aglütinasyon (Staphyloslide Latex Test, BD Diagnostics, Sparks, MD) yöntemi ile *S. aureus* kolonileri olduğu doğrulanmıştır. Tipik koloni morfolojisine sahip, eflatun renkli ve koagülaz testi olumlu olan koloniler CLSI önerilerine uygun olarak Mueller-Hinton agarda (Salubris AŞ, Türkiye) sefoksitin (30 µg) diski ile test edilmiş ve zon çapı ≤21 mm bulunan kökenler MRSA olarak tanımlanmıştır (8). İlk 24 saat içinde kuşkulu koloni bulunmayan plaklar 24 saat daha inkübe edilmiş ve yeniden incelenmiştir. Koyun kanlı agarda ise inkübasyon sonunda *S. aureus*'a benzer koloni

yapıları incelenerek kuşkulu kolonilerden DNase Test Agara (BD Diagnostics, Sparks MD) aktarım yapılmış ve tüpte koagülaz testi uygulanmıştır. Koagülaz testi ve 24 saatlik inkübasyon sonunda DNase testi olumlu bulunan koloniler Mueller-Hinton agarda sefoksitin disk difüzyon testi ile test edilmiş ve sefoksitine dirençli olan kökenler MRSA olarak tanımlanmıştır.

Zenginleştirme yöntemi için alınan ikinci sürüntü örneği ise 5 ml triptik soy broth (BD Diagnostics, Sparks MD) içine aktarılarak 35°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra sıvı besiyerinden kromojenik agara (CHROMagar MRSAII, BD Diagnostics, Sparks, MD) aktarım yapılmış ve plaklar yukarıda açıklandığı şekilde incelenmiştir.

Üçüncü sürüntü örneğinden üretici firmanın (BD Diagnostics, Sparks MD) önerilerine uygun olarak Smart Cycler II hızlı DNA amplifikasyon sistemi (Cepheid, Sunnyvale, CA) ile PZR çalışılmıştır. DNA ekstraksiyonu için kit (BD Diagnostics, Sparks MD) kullanılmıştır. Bu aşamada kırılmış cam boncuk içeren tüpler kullanılarak santrifüjleme ve ardından ısıtma ile DNA elde edilmiştir. DNA ekstraksiyonu yapılmış olan örnekler -20°C'de çalışılncaya kadar saklanmıştır. Kültür yöntemlerinden en az birisinde MRSA üremesine rağmen PZR testinin negatif bulunması durumunda "PZR yanlış negatif", kültür yöntemlerinden hiçbirinde üreme olmamasına rağmen PZR testinin pozitif bulunması durumunda "PZR yanlış pozitif" olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada ATCC 25923 ve ATCC 43300 kalite kontrol suşları kullanılmıştır.

Elde edilen sonuçlar SPSS 11:5 (SPSS INC, Chicago, IL, USA) istatistik paket programında değerlendirilmiş ve kullanılan yöntemler karşılaştırılarak duyarlılıkları, özgüllükleri, pozitif ve negatif prediktif değerleri hesaplanmıştır.

## BULGULAR

Araştırmada 131 hasta (%74,0), 29 hekim (%16,4) ve 17 (%9,6) yardımcı sağlık personeli olmak üzere toplam 177 kişiden burun sürüntüsü örneği alınmıştır.

Geleneksel kültür yöntemi olan koyun kanlı agara yapılan ekimlerde 27 (%15,3) örnekte MRSA üremiş, 150 (%84,7) örnekte ise üreme olmamıştır. Kromojenik agarda ise 33 (%18,6) örnekte MRSA üremiş, 144 (%81,4) örnekte üreme olmamıştır. Üreme görülmeyen kromojenik agarlarda uzamış inkübasyon sonunda da üremenin olmadığı gözlenmiştir. Zenginleştirilmiş besiyerinde bekletildikten sonra kromojenik agara yapılan aktarımlardan sonra ise 36 (%20,3) örnekte MRSA üremiş, 141 (%79,7) örnekte üreme görülmemiştir. Kromojenik agarda üreyen kuşku kolonilerin tümü sefoksitine dirençli bulunmuştur.

GeneOhm MRSA PZR testi toplam 177 örneğin 36'sında (%20,3) pozitif, 141'inde (%79,7) negatif sonuç vermiştir. Zenginleştirme yöntemi ile MRSA izolasyonu saptanan, ancak kromojenik agarda ve kanlı agarda üreme görülmeyen üç örneğin PZR testi sonucu pozitif bulunmuştur. Kanlı agarda üremeyen, buna karşın kromojenik agarda veya zenginleştirme yöntemi ile MRSA izolasyonu saptanan toplam 10 örneğin PZR sonuçları da pozitif olarak değerlendirilmiştir. PZR ve kültür yöntemlerinden elde edilen sonuçlar Tablo 1'de, PZR testinin kullanılan kültür yöntemlerine göre duyarlılık, özgüllük pozitif ve negatif prediktif değerleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

## TARTIŞMA

MRSA enfeksiyonlarının kontrolünde ve sağaltım başarısında etkenin hızlı tanısının büyük önem taşıdığı ve aktif sürveyans kültürlerinin 24 saat içinde sonuç vermesi gerektiği bildirilmiştir (9, 10). Geleneksel kültür yöntemlerinde ise bu süre 48-96 saate kadar uzayabilmektedir. Bu nedenle son yıllarda MRSA için hızlı kültür sistemleri ve moleküler tanı testleri konvansiyonel kültür yöntemlerine alternatif olarak kullanılmaya çalışılmaktadır. Ancak bu yöntemler hızlı olmakla birlikte daha pahalı olmaları ve yanlış pozitif sonuç verebilmeleri nedeni ile maliyet-etkinliği değerlendirmek için geniş kapsamlı klinik çalışmalara gereksinim duyulmaktadır (11).

Bu çalışmada kültür yöntemleri içinde en duyarlı (%97,3) yöntem olarak triptik soy broth'un kullanıldığı zenginleştirme yöntemi bulunmuştur (Tablo 1). MRSA izolasyonunda kültür yöntemlerini karşılaştıran birçok çalışma olmakla birlikte, kullanılan sürüntü örnekleri, kültür öncesi yapılan işlemler, inkübasyon süresi ve kullanılan besiyeri içerikleri farklı olduğundan sonuçları değerlendirmek güçtür.

**Tablo 1.** GeneOhm MRSA PZR sonuçları ile kültür sonuçlarının karşılaştırılması

	GeneOhm MRSA PZR				Toplam	
	Pozitif		Negatif		Sayı	(%)
Koyun Kanlı Agar	Sayı	(%)	Sayı	(%)	Sayı	(%)
Pozitif	26	(96,3)	1	(3,7)	27	(100)
Negatif	10	(6,7)	140	(93,3)	150	(100)
Toplam	36	(20,3)	141	(79,7)	177	(100)
<b>CHROMagar</b>						
Pozitif	32	(97,0)	1	(3,0)	33	(100)
Negatif	4	(2,8)	140	(97,2)	144	(100)
Toplam	36	(20,3)	141	(79,7)	177	(100)
<b>Zengin Besiyeri</b>						
Pozitif	35	(97,2)	1	(2,8)	36	(100)
Negatif	1	(0,7)	140	(99,3)	141	(100)
Toplam	36	(20,3)	141	(79,7)	177	(100)



**Tablo 2.** GeneOhm MRSA PZR testinin kültür yöntemlerine göre duyarlılık ve özgüllüğünü değerlendirilmesi

	Duyarlılık	Özgüllük	PPD*	NPD**	Uyumluluk
Kanlı Agar	72,2	99,3	96,3	99,3	93,8
Kromojenik Agar	88,9	99,3	96,9	97,2	97,2
Zengin besiyeri	97,2	99,3	97,2	99,3	98,9

\* Pozitif prediktif değer,

\*\* Negatif prediktif değer

Ancak sefoksitin içeren kromojenik hızlı kültür sistemlerinin ve kültür öncesi zenginleştirmenin geleneksel kültür yöntemlerine oranla daha duyarlı olduğu bildirilmektedir (12, 13). Wolk ve ark (14) tarafından yapılan bir araştırmada zenginleştirme yönteminin kültür pozitifliğine %7 oranında katkı sağladığı bulunmuştur. Bu araştırmada da geleneksel kültür yöntemi ile izole edilemeyen 10 ve kromojenik besiyerinde izole edilemeyen üç örnekte zenginleştirme yöntemi ile MRSA izolasyonu sağlanmıştır. Zenginleştirme yönteminin duyarlılığı (%97,3) ve özgüllüğü (%100) yüksek olmakla birlikte, 24 saat ek inkübasyon gerektirmesi ve sıvı besiyeri kullanımı sonucu maliyetin artması nedeni ile tarama kültürüne uygun olup olmadığı tartışılabilir. Bununla birlikte, yüksek duyarlılığı ve özgüllüğü göz önüne alınarak MRSA taşıyıcılığının eradikasyonunun belirlenmesinde veya yüksek risk grubunda bulunan hastaların taranmasında kullanımının öncelikli olabileceği düşünülmüştür.

Örneklerin zenginleştirme yapılmadan doğrudan kromojenik agara ekimi sonucu 24 saat sonra sonuç alınabilmektedir. Kromojenik besiyerlerinin duyarlılığı %80'den fazla, özgüllüğü ise %100'e yakın bildirilmektedir (9). Bu araştırmada da CHROMAgarın duyarlılığı %89,2, özgüllüğü ise %100 bulunmuştur. Ben Nsira ve ark.ları (15) tarafından yapılan bir araştırmada ise kromojenik agarda (MRSA select) tek kriter olarak pembe renkli koloni oluşumu göz önüne alınarak yapılan değerlendirme sonucu duyarlılığın %99, özgüllüğün %99,8 olduğu bildirilmiştir.

Amerika Birleşik Devletleri'nde dört ayrı merkezde yürütülen ve 2015 burun sürüntü örneğinin incelendiği bir araştırmada CHROMAgarın duyarlılığı %95,2, koyun kanlı agarın duyarlılığı ise %86,9 olarak bulunmuştur (16). Araştırmalarda inkübasyon süresinin uzatılması ile kromojenik agarların duyarlılığının arttığı bildirilmektedir (12, 17). Çeşitli vücut bölgelerinden alınan 6199 sürveyans sürüntü örneğinin incelendiği bir araştırmada, 24 saat sonra kromojenik agarın duyarlılığı %93, özgüllüğü %99 iken, 48 saat sonra duyarlılığın %98, özgüllüğün %92 olduğu belirlenmiştir (17). Bu araştırmada ek inkübasyon sonucu duyarlılığın ve özgüllüğün değişmediği gözlenmiştir.

Çalışmada geleneksel kültür yöntemi olarak kullanılan koyun kanlı agarın duyarlılığı ise %72,9 olarak bulunmuştur. Ayrıca koyun kanlı agar kullanıldığında izolasyon süresi 72 saate kadar uzamıştır. Bu nedenle 24 saat sonra sonuç vermesi ve geleneksel kültür yöntemlerinden daha duyarlı bulunması nedeni ile riskli hastalarda yapılan tarama kültürlerinde kromojenik besiyerlerinin kullanılabilirliği ve 24 saatlik inkübasyonun yeterli olacağı düşünülmüştür.

Günümüzde doğrudan sürüntü örneklerinden MRSA saptanmasını sağlayan FDA (Food and Drug Administration) onaylı iki gerçek zamanlı PZR testi bulunmaktadır (9). Bu testler GeneOhm MRSA (Becton Dickinson) ve GeneXpert (Cepheid)'dir. Her iki test de ülkemizde bulunmaktadır. Bu testlerde mecA yerine bu geni taşıyan SCCmec elemanının çevresinde bulunan ve *S. aureus*'a özgü diziler hedeflenmektedir. Böylelikle metisiline dirençli koagülaz negatif stafilokokların neden olduğu yalancı pozitiflikler önlenabilmektedir (9). Araştırmada PZR yönteminin en hızlı kültür sistemi olan kromojenik agara göre duyarlılığı %96,9, özgüllüğü %97,2, en duyarlı kültür yöntemi olarak bulunan zenginleştirme yöntemine göre duyarlılığı %97,2, özgüllüğü ise %99,3 olarak bulunmuştur. Yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahip olması ve üç saat içinde sonuç verebilmesi nedeni ile yüksek riskli hasta gruplarında GeneOhm MRSA yönteminin kültür sistemlerine alternatif olarak

değerlendirilebileceği düşünülmüştür. Uçkay ve ark.ları (18) tarafından yapılan bir araştırmada ise daha önce MRSA taşıyıcısı olduğu bilinen hastalarda kromojenik besiyeri ile yapılan tarama kültürlerinin yerine PZR testinin kullanılması ile hastalarda gereksiz izolasyon oranının %54, maliyetin ise %45 oranında azaltıldığı gösterilmiştir. Bu nedenle elde edilen yüksek duyarlılık ve özgüllükleri göz önüne alınarak, moleküler yöntemlerin önceden MRSA taşıyıcısı olduğu bilinen hastalarda maliyet-etkin olduğu düşünülebilir.

Araştırmada PZR ve kültür sonuçları karşılaştırıldığında, yanlış pozitif PZR sonucunun bulunmadığı gözlenmiştir. Kültür pozitif, PZR negatif sonuç veren ve yalancı negatif PZR olarak değerlendirilen örnek sayısı ise bir adettir. Bu durumun inhibisyon kaynaklanabileceği gibi, mukozal enzimler ile DNA'nın yıkımına veya inokülüm miktarının düşük olmasına bağlı olabilir. Çay M.'nin (19) tez çalışmasında da MRSA olarak tanımlanan 92

kökenin 71'inde laboratuvar yapımı PZR yöntemi ile mecA geni saptanmıştır (19). Özellikle düşük düzeyde kolonizasyonun söz konusu olduğu durumlarda, kültürde üremenin olabildiği, fakat inokülüm miktarının PZR testinin saptama düzeyinin altında kalabileceği bildirilmiştir (20, 21).

Sonuç olarak, araştırmada en duyarlı ve özgül kültür yöntemi olarak, triptik soy brothun kullanıldığı zenginleştirme yöntemi bulunmuştur. En hızlı kültür yöntemi olan kromojenik agara doğrudan ekim yönteminin duyarlılığı %89,2, özgüllüğü %100 olarak değerlendirilmiştir. GeneOhm MRSA PZR'nin duyarlılığı ve özgüllüğü ise zenginleştirme yöntemi ile benzer bulunmuştur. Çalışmadan elde edilen sonuçlar ve kullanılan yöntemlerin maliyetleri göz önünde bulundurularak, hastanemizde yoğun bakımda yatan MRSA için yüksek riskli hastaların aktif sürveyans taramalarında ön zenginleştirme de triptik soy broth kullanılarak veya doğrudan ekim yapılarak kromojenik agarın kullanılabilirliği düşünülmüştür.

## KAYNAKLAR

1. Kocagöz S, Öztop AY. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Turkey. *Lancet Infect Dis*, 2005; 5(10): 659-60.
2. Dokuzoğuz B. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'a bağlı hastane infeksiyonlarının epidemiyolojisi ve kontrolü. In: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S eds. Önemli ve Sorunlu Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Birinci Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004: 55-71.
3. Wertheim HFL, Meles DC, van Leeuwen W, van Belkum A, Nouwen JL. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*, 2005; 5(12): 751-62.
4. Kluytmans J. Control of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and the value of rapid tests. *J Hosp Infect*, 2007; 65 (S2): 100-4
5. Struelens MJ. Rapid identification of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and patient management. *Clin Microbiol Infect*, 2006; 12 (suppl 9): 23-6.
6. Paule SM, Hacek DM, Kufner B et al. Performance of the BD GeneOhm methicillin resistant *Staphylococcus aureus* test before and during high-volume clinical use. *J Clin Microbiol*, 2007; 45(9): 2993-8.
7. Diekema DJ, Edmond MB. Look before you leap: active surveillance for multidrug-resistant microorganisms. *Clin Infect Dis*, 2007; 44(8): 1101-7.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Eighteenth Informational Supplement, Volume 28, Number 1, CLSI document M100-S18, 2008, Wayne, PA.
9. Gülay Z. Çoklu dirençli hastane infeksiyonu kontrolünde hızlı tanı testleri. *ANKEM Derg*, 2009; 23 (Ek 2): 193-200.
10. Tacconelli E, De Angelis G, de Waure C, Cataldo MA, La Torre G, Cauda R. Rapid screening tests for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at hospital admission: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*, 2009; 9(9): 546-54.

11. French GL. Methods for screening for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* carriage. Clin Microbiol Infect, 2009; 15 Suppl 7: 10-6.
12. Nonhoff C, Denis O, Brenner A, Buidin P, Legros N, Thiroux C, et al. Comparison of three chromogenic media and enrichment broth media for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from mucocutaneous screening specimens. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2009; 28(4): 363-9.
13. Brown DF, Edwards DI, Hawkey PM, Morrison D, Ridgway GL; Towner KJ, et al. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). J Antimicrob Chemother, 2005; 56(6): 1000-18.
14. Wolk DM, Marx JL, Dominguez L, Driscoll D, Schiffman RB. Comparison of MRSASelect Agar, CHROMagar methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Medium, and Xpert MRSA PCR for detection of MRSA in nares: Diagnostic accuracy for surveillance samples with various bacterial densities. J Clin Microbiol, 2009; 47(12): 3933-6.
15. Ben Nsira S, Dupuis M, Leclercq R. Evaluation of MRSA Select, a new chromogenic medium for the detection of nasal carriage of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Int J Antimicrob Agents, 2006; 27(6): 561-4.
16. Flayhart D, Hindler JF, Bruckner DA, Hall G, Shrestha RK, Vogel SA, et al. Multicenter evaluation of BBL CHROMagar MRSA medium for direct detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from surveillance cultures of the anterior nares. J Clin Microbiol, 2005; 43(11): 5536-40.
17. Louie L, Soares D, Meaney H, Vearncombe M, Simor AE. Evaluation of a new chromogenic medium, MRSA Select, for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol, 2006; 44(12): 4561-3.
18. Uçkay I, Sax H, Iten A, Camus V, Renzi G, Schrenzel J, et al. Effect of screening for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* carriage by polymerase chain reaction on the duration of unnecessary preemptive contact isolation. Infect Control Hosp Epidemiol, 2008; 29(11): 1077-9.
19. Çay M. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'un polimeraz zincir reaksiyonu ile hızlı tanısı. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji AD, 2007.
20. Farley JE, Stamper PD, Ross T, Cai M, Speser S, Carroll KC. Comparison of the BD GeneOhm methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) PCR assay to culture by use of BBL CHROMagar MRSA for detection of MRSA in nasal surveillance cultures from an at risk community population. J Clin Microbiol, 2008; 46(2): 743-6.
21. DeSan N, Denis O, Gasasira MF, De Mondenca R, Nonhoff C, Struelens M. Controlled evaluation of the IDI-MRSA assay for detection of colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in diverse mucocutaneous specimens. J Clin Microbiol, 2007; 45(4): 1098-1101.

## Van İli içme sularının *Cryptosporidium* spp. ookistleri yönünden incelenmesi

### Investigation for *Cryptosporidium* spp. oocysts of drinking water in Van

Mutalip ÇİÇEK<sup>1</sup>, Hanifi KÖRKOCA<sup>2</sup>, Önder AKKAŞ<sup>1</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** İçme suyu ile bulaşan ve insanlarda salgın hastalıklara sebep olan birçok mikroorganizma vardır. Bunlardan biri olan *Cryptosporidium* spp. kontamine sularla bulaşarak enterite neden olan bir protozoonur. İnsan ve hayvan dışkılarıyla atılan bu parazitin ookistleri sanitasyonu kötü çevrelerde içme suyu kaynaklarının kontaminasyonuna yol açmaktadır. Ookistler çevre şartlarına ve bakterileri etkisiz hale getirecek konsantrasyondaki dezenfektanlara dirençlidir. Su ortamında uzun süre canlı kalabilmeleri ve dezenfeksiyona dayanıklı olmaları su arıtma işlemlerinde önemli sorunlar oluşturmaktadır. Bu çalışmada *Cryptosporidium*'un yöremiz içme sularındaki yaygınlığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** İçme suyu olarak kullanılan toplam 440 kaynaktan su örnekleri alınmış ve beşer litrelik temiz plastik bidonlara alınarak laboratuvara getirilmiştir. Su örnekleri 0,45 µm'lik selüloz asetat membran filtresi bulunan vakum pompalı filtrasyon cihazından süzölmüştür. Filtre üzerindeki partikülata aynı su örneğinin 20 ml'si içinde yıkanarak santrifüj edilmiş ve çökelti lam üzerine bırakılmıştır. Hazırlanan preparatlar filtrasyon cihazından süzöldükten sonra modifiye asit-fast yöntemiyle boyanarak incelenmiştir. Her bir örnek için üçer preparat hazırlanmıştır.

**Bulgular:** Toplam 440 su örneğinin %1,13'ünde *Cryptosporidium* spp. ookistleri saptanmıştır. İçme suyu olarak kullanılan 191 yüzeysel kaynak suyunun

#### ABSTRACT

**Objective:** There are many microorganisms transmitted by drinking water and causing epidemic diseases in humans. One of these, *Cryptosporidium* spp is a protozoon causing enteritis transmitted with contaminated waters. Oocysts of the parasite thrown with human and animal feces cause contamination of drinking water sources in environments with poor sanitation. Oocysts are resistant to the environmental conditions and disinfectants concentrations which are effective on bacteria. Oocysts rise to important problems in water treatment due to remaining alive for a long time in water and the resistance to disinfectants. This study aimed to determine the prevalence of this parasite in the drinking water of the Van region.

**Method:** Drinking water samples were taken from 440 sources totally. Water samples were brought to laboratory in five liter clean plastic bins and filtrated from filtration device with vacuum pump which has 0.45 µm cellulose acetate membranes. Particles on the filter were centrifuged by washing in 20 ml of the same water sample, and the sediment was left on the slide. Prepared slides were examined by staining with modified acid fast method after filtering through filtration devices. Three stained slides were prepared for each sample.

**Results:** *Cryptosporidium* oocysts were detected in 1.13% of the total 440 water samples. Oocysts were determined in 1.57% of 191 surface water sources and

<sup>1</sup> Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Ana Bilim Dalı, VAN

<sup>2</sup> Van İl Sağlık Müdürlüğü, Halk Sağlığı Laboratuvarı, VAN

İletişim / Corresponding Author : Mutalip ÇİÇEK

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Ana Bilim Dalı, VAN

Tel : +90 412 248 80 01/4092

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

Geliş Tarihi / Received : 29.05.2011

Kabul Tarihi / Accepted : 23.07.2011

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2011.26214

Çiçek M, Körkoca H, Akkaş Ö. Van İli içme sularının *Cryptosporidium* spp. ookistleri yönünden incelenmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2011; 68 (3): 122-6.

%1,57'sinde, şehir merkezi ve ilçelerden temin edilen 241 şebeke içme suyunun %0,82'sinde ookistler görülmüştür. Su örneklerinin 193'ü kırsal alanlardan elde edilen içme suları olup bunların %1,55'inde, şehir ve ilçe merkezlerinde içme suyu olarak kullanılan 247 suyun ise %0,80'inde pozitiflik saptanmıştır.

**Sonuç:** *Cryptosporidium* su ile bulaşan patojen protozoonlardan biridir. Bu yüzden su analizlerinin yapıldığı laboratuvarlarda *Cryptosporidium* rutin analizler içine alınmalı ve bu laboratuvarlar bu parazitin teşhisine yönelik donanımlı hale getirilmelidir. Suyu bulaşan bu protozoonun bulaşma riskini azaltmak için klasik su arıtma yöntemleri ile birlikte ultraviyole, ozonlama ve monitoring sistem gibi modern su arıtma tekniklerinin kullanılmasının halk sağlığı tehditlerini ortadan kaldıracak şekilde kanaatindeyiz.

**Anahtar Sözcükler:** *Cryptosporidium* spp., içme suyu, Van

0.82 % of 241 drinking water of city and town networks. *Cryptosporidium* oocysts were positive in 1.55% of 193 water samples from drinking water in rural areas and in 0.80% of 247 water used as drinking water in the city and district centers.

**Conclusion:** *Cryptosporidium* is one of the pathogen protozoa transmitted by contaminated water. For this reason, *Cryptosporidium* should be checked routinely in water analysis laboratories and these laboratories should be equipped to diagnose this protozoon. We think that to reduce the risk of water-borne transmission of *Cryptosporidium*, which threatens public health, modern water treatment techniques such as ultraviolet, ozonation and water monitoring systems should be used with conventional water treatment methods.

**Key Words:** *Cryptosporidium* spp., drinking water, Van

## GİRİŞ

*Cryptosporidium* spp. gıda ve sularla bulaşan, insan ve hayvanlarda ishal etkeni olan bir protozoonudur (1). İnsan ve hayvan dışkıyla atılan bu parazitin ookistleri sanitasyonu kötü çevrelerde içme suyu kaynaklarının kontaminasyonuna yol açmaktadır. Ookistler çevre şartlarına ve bakterileri etkisiz hale getirecek konsantrasyondaki dezenfektanlara dirençlidir (2). *Cryptosporidium* ookistlerinin yapay deniz suyunda 4°C'de bir yıla kadar bozulmadan kalabildiği bildirilmiştir (3). Suyun klorlanması yeterli koruma sağlamamaktadır. Suyun bir dakika süreyle kaynatılması veya 20 dakika iyodine muamele edilmesi ya da filtre edilmesi ookistlerin etkisiz hale getirilmesi/uzaklaştırılması için etkili yöntemlerdir. Ancak belediyeler için şehir şebeke sularında uygulanması pratik değildir (4). Enfeksiyon oluşturmak için gerekli ookist sayısının 83-123 arasında olduğu belirtilmiştir (5). Su ortamında uzun süre canlı kalabilmeleri ve dezenfeksiyona dayanıklı olmaları su arıtma işlemlerinde önemli sorunlar oluşturmaktadır (6). Bu çalışma, Van İl merkezi ve çevresinde içme sularında *Cryptosporidium* ookistlerinin varlığının araştırılması amacıyla planlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Van merkez ve ilçelerinde Nisan-Ekim 2007 tarihleri arasında İl Sağlık Müdürlüğü Halk Sağlığı Laboratuvarına analiz amacıyla getirilen içme suları üzerinde gerçekleştirilmiştir. Van İl merkezinin içme suyu ihtiyacı Gürpınar ilçesinden, ilçenin ismine de konu olan büyük bir su kaynağı ve çay başlangıcı olan "Başbulak Mevkiinden" karşılanmaktadır. Bazı mahallelerde ise sondaj kuyularından içme suyu temin edilmektedir. Araştırmada Van yöresinde içme suyu olarak kullanılan toplam 440 farklı yerden su örnekleri alınmıştır. İçme sularının 241'i Van merkez ve ilçelerden getirilen arıtma sonrası içme suyu, 191'i belde ve köylerden getirilen yüzeysel kaynak suyu, altısı sondaj kaynaklı Van merkezden getirilen içme suyu, ikisi ise belde ve köylerden getirilen kuyu suyu idi. Su örnekleri beşer litrelik temiz plastik bidonlara alınarak laboratuvara getirilmiştir.

Su örnekleri 0,45 µm'lik selüloz asetat membran filtresi bulunan vakum pompalı filtrasyon cihazından süzülmüştür. Filtre üzerindeki partikül atı ayırma suyu örneğinin 20 ml'si içinde yıkanarak santrifüj edilmiş



ve çökelti lam üzerine bırakılmıştır. Her bir örnek için üçer adet preparat hazırlanmıştır. Hazırlanan preparatlar modifiye asit-fast yöntemiyle boyanarak incelenmiştir.

## BULGULAR

İncelenen 440 su örneğinin %1,14'ünde *Cryptosporidium* spp. oookistleri saptanmıştır.

İçme suyu olarak kullanılan 191 yüzeysel kaynak suyunun %1,57'sinde, şehir merkezi ve ilçelerden temin edilen 241 şebeke içme suyunun %0,83'ünde, oookistler görülmüştür. Kırsal alandan elde edilen iki kuyu suyu ve şehir merkezinden temin edilen altı sondaj suyunun hiçbirinde oookistlere rastlanmamıştır.

**Tablo 1.** Van ili'nde toplanan 440 içme suyu örneğinde saptanan *Cryptosporidium* spp. pozitiflik oranları

	Pozitif		Negatif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Şebeke içme suyu	2	0.83	239	99.17	241	100
Yüzeysel kaynak suyu	3	1.57	188	98.43	191	100
Sondaj kaynaklı içme suyu	0	0	6	100	6	100
Kuyu suyu	0	0	2	100	2	100
<b>Toplam</b>	<b>5</b>	<b>2.40</b>	<b>435</b>	<b>97.60</b>	<b>440</b>	<b>100</b>

**Tablo 2.** Van ili'nde toplanan 440 içme suyu örneğinin kaynaklarına göre pozitiflik oranları

	Pozitif		Negatif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Kırsal	3	1.55	190	98.45	193	100
Şehir merkezi ve ilçeler	2	0.80	245	99.20	247	100
<b>Toplam</b>	<b>5</b>	<b>2.35</b>	<b>435</b>	<b>97.65</b>	<b>440</b>	<b>100</b>

Su örneklerinin 193'ü kırsal alanlardan elde edilen içme suları olup bunların %1,55'inde, şehir ve ilçe merkezlerinde içme suyu olarak kullanılan 247 suyun ise %0,80'inde pozitiflik saptanmıştır.

## TARTIŞMA

Kontamine sudan kaynaklı cryptosporidiosis salgınları zaman zaman bildirilmektedir. Bunlar içinde en çarpıcı olan iki salgından biri 1989 yılında İngiltere'de Swindon ve Oxfordshire'da yaklaşık 5.000 insanı etkileyen, diğeri ise 1993 yılında ABD'nin Milwaukee eyaletinde görülen 400 binden fazla insanı etkileyen salgınlardır (7, 8). Yedi *Cryptosporidium* türünün (*Cryptosporidium parvum*, *Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium meleagridis*, *Cryptosporidium felis*, *Cryptosporidium canis*, *Cryptosporidium suis* ve *Cryptosporidium muris*) insanlarda hastalığa sebep olduğu, fakat salgınların ve vakaların çoğunda *C.parvum* ve *C.hominis* saptanmıştır (9). Son yıllarda Amerika ve Avrupa'da gıda ve su ile geçen birçok cryptosporidiosis salgınının kontaminasyon kaynağının insan mı hayvan mı olduğu açıklığa kavuşturulmasa bile *C.parvum* tarafından oluşturulduğu bildirilmiştir (10-13). Su örneklerinde *Cryptosporidium* oookistlerinin tür identifikasyonu için sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda sularda teşhis edilen *Cryptosporidium* oookistlerinin büyük bir kısmının insanlar için zararlı türler olmadığı belirlenmiştir. Günümüzde su örneklerinde oookistleri teşhis etmek için kullanılan metodlar *Cryptosporidium* türünü ayırt etmekte yetersizdir. Bu nedenle insanlarda enfektif olan *Cryptosporidium* türlerinin suları hangi ölçüde kontamine ettiğini açığa çıkarmak için daha fazla çalışmaya ve yeni yöntemlere gereksinin olduğu belirtilmiştir (14).

LeChevallier ve ark. (15) Amerika'da 14 eyalete ait artma tesisinde *Giardia* kist ve *Cryptosporidium* oookistlerini arıtılmamış sularda %81 ve %87, filtre edilmiş sularda ise %17 ve %27 oranlarında tespit ettiklerini, Portekiz'de Almeida ve ark. (16) 44

kaynaktan aldıkları 167 içme suyunun %8,4'ünde *Giardia* kistleri, %10,2'sinde ise *Cryptosporidium* ookistlerine rastladıklarını bildirmişlerdir. Razzolini ve ark. (17) Brezilya'da 12'si içme suyu, 13'ü artılmamış toplam 25 su kaynağında yapılan çalışmada artılmamış suların %46,1 ve %7,6, içme sularında ise %41,7 ve %25 oranlarında *Giardia* kist ve *Cryptosporidium* ookistlerini saptadıklarını rapor etmişlerdir.

İstanbul'da Köksal (18) tarafından işlenmemiş su örneklerinde *Cryptosporidium* ookistleri ve *Giardia* kistleri araştırılmıştır. İstanbul'a su sağlayan barajlardan elde edilen 40 su örneği 1 µm por büyüklüğünde filtreden süzülükten sonra *Crypto/Giardia*-cell IF testi (ayrıca *Giardia* için çinko sülfat ile yüzdürme sonrası nativ-lugol yöntemi) kullanılarak araştırılmış ancak örneklerde bu parazitlere rastlanmadığı belirtilmiştir.

Mersin'de Çeber ve ark. (19) içme suyu, kullanma suyu, atık su ve deniz sularından oluşan toplam 100 su örneğinde *Cryptosporidium* ookitlerini araştırmışlardır. Su örneklerini 0,45 µm'lik selüloz asetat membran filtresi bulunan filtrasyon cihazından geçirdikten sonra sedimantasyon sonrası modifiye Kinyoun asit fast ve Auramin-O boyama yöntemleri ile boyamışlardır. Bu çalışma sonucunda 44 içme suyunun %11,36'sında, 35 deniz suyu örneğinin %2,85'inde, 19 atık su örneğinin %21'inde ve her iki kullanma suyunun birinde, iki boyama yöntemiyle *Cryptosporidium* ookisti saptadıklarını bildirmişlerdir. Tarafımızca yapılan çalışmada içme sularındaki oran bu çalışmadaki içme sularında saptanan

bulguya göre düşük bulunmuştur. Bunun sebebinin modifiye asit-fast boyama yöntemi kullanılmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Türkiye'de *Cryptosporidium* ve *Cyclospora*'dan kaynaklanan tek su salgını Aksoy ve ark. (20) tarafından İzmir'in bir köyünde bildirilmiştir. Bu salgında ookistler Kinyoun asit-fast yöntemi kullanılarak teşhis edilmiştir.

Ülkemizde *Cryptosporidium* kaynaklı bildirilen su salgınlarının sadece bir vaka olması dikkat çekicidir. Bu durum ya Türkiye'de tüketilen içme sularının çok iyi derecede arıtıldığını ya da salgınların bu parazite yönelik araştırılmadığını göstermektedir. Salgınlar sonrası bölgeye giden il sağlık müdürlüğü halk sağlığı laboratuvarı çalışanlarının parazitoloji konusunda deneyimli olmaması veya bu laboratuvarlarda bu parazitin teşhisine yönelik donanım eksikliğinin yetersiz bildirimlerin nedeni olabileceği kanaatindeyiz.

*Cryptosporidium* suyla bulaşan önemli patojenlerden biridir. Bu yüzden su analizlerinin yapıldığı laboratuvarlarda *Cryptosporidium* rutin analizler içine alınmalı ve laboratuvarlar bu parazitin teşhisine yönelik donanımlı hale getirilmelidir. Suyla bulaşan bu protozoonun bulaşma riskini azaltmak için klasik su arıtma yöntemleri ile birlikte ultraviyole, ozonlama ve monitoring sistem gibi yeni su arıtma tekniklerinin kullanılmasının halk sağlığı tehditlerini ortadan kaldıracak şekilde kanaatindeyiz.

## KAYNAKLAR

1. Fayer R. *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. *Vet Parasitol*, 2004; 126: 37-56.
2. Karanis P, Papadopoulou C, Kimua A, Economou E, Kourenti C, Sakkas H. *Cryptosporidium* and *Giardia* in natural, drinking and recreational water of Northwestern Greece. *Acta Hydrochim Hydrobiol*, 2002; 30: 49-58.
3. Tamburrini A, Pozio E. Long-term survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts in seawater and in experimentally infected mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Int J Parasitol*, 1999; 29: 711-5.
4. Redlinger T, Corella-Barud V, Graham J, Galindo A, Avita R, Cardenas V. Hyperendemic *Cryptosporidium* and *Giardia* in households lacking municipal sewer and water on the United States-Mexico Border. *Am J Med Trop Hyg*, 2002; 66: 784-98.

5. Chappell CL, Okhuysen PC, Langer-Curry R, Widmer G, Akiyoshi DE, Tanrıverdi S et al. *Cryptosporidium hominis*: experimental challenge of healthy adults. *Am J Trop Med Hyg*, 2006; 75: 851-7.
6. Schaefer FW. Detection of Protozoan Parasites in Source and Finished Drinking Waters. "Hurst CJ, Knudsen GR, Melnerney MJ, Stetzenbach LD, Walter MV (eds) Manual of Environmental Microbiology, ASM Press Washington, D.C. 1997.
7. Richardson AJ, Frankenberg RA, Buck AC, Selkon JB, Colbourne JS, Parsons JW et al. An outbreak of waterborne cryptosporidiosis in Swindon and Oxfordshire. *Epidemiol Infect*, 1991; 107: 485-95.
8. Mac Kenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME, Gradus MS, Blair KA, Peterson DE et al. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *N Engl J Med*, 1994; 331:161-7.
9. Cacciò SM, Thompson RC, McLaughlin J, Smith HV. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. *Trends Parasitol*, 2005; 21:430-7.
10. McLaughlin J, Amar C, Pedraza-Díaz S, Nichols GL. Molecular epidemiological analysis of *Cryptosporidium* spp. in the United Kingdom: results of genotyping *Cryptosporidium* spp. in 1,705 fecal samples from humans and 105 fecal samples from livestock animals. *J Clin Microbiol*, 2000; 38 :3984-90.
11. Ong CS, Eisler DL, Goh SH, Tomblin J, Awad-El-Kariem FM, Beard CB et al. Molecular epidemiology of cryptosporidiosis outbreaks and transmission in British Columbia, Canada. *Am J Trop Med Hyg*, 1999; 61: 63-9.
12. Peng MM, Xiao L, Freeman AR, Arrowood MJ, Escalante AA, Weltman AC. Genetic polymorphism among *Cryptosporidium parvum* isolates: evidence of two distinct human transmission cycles. *Emerg Infect Dis*, 1997; 3:567-73.
13. Sulaiman IM, Xiao L, Yang C, Escalante L, Moore A, Beard CB et al. Differentiating human from animal isolates of *Cryptosporidium parvum*. *Emerg Infect Dis*, 1998; 4: 681-5.
14. Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton SJ. *Cryptosporidium* taxonomy: Recent advances and implications for public health. *Clin Microbiol Rev*, 2004; 17: 72-97.
15. LeChevallier MW, Norton WD, Lee RG. *Giardia* and *Cryptosporidium* sp, in filtered drinking water supplies. *Appl Environ Microbiol*, 1991; 26: 17-21.
16. Almeida A, Moreira MJ, Soares S, Delgado Mde L, Figueiredo J, Silva E et al. Presence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in drinking water samples in the north of Portugal. *Korean J Parasitol*, 2010; 48: 43-8.
17. Razzolini MT, da Silva Santos TF, Bastos VK. Detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* cysts/oocysts in watersheds and drinking water sources in Brazil urban areas. *J Water Health*, 2010; 8: 399-404.
18. Köksal F. Kaynak sularının *Giardia* ve *Cryptosporidium* yönünden incelenmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2002; 32: 275-7.
19. Çeber K, Aslan G, Otağ F, Delialioğlu N, Öztürk C, Babür C et al. Mersin İlinde içme suyu, kullanma suyu, atık su ve deniz sularında *Cryptosporidium* spp. oocistlerinin araştırılması, *Türkiye Parazitol Derg*, 2005; 29: 224-8.
20. Aksoy U, Akısü Ç, Şahin S, Usluca S, Yalçın G, Kuralay F et al. First reported waterborne outbreak of cryptosporidiosis with *Cyclospora* co-infection in Turkey. *Euro Surveill*, 2007;12: E070215.

# Akut koroner sendromda troponin T ve troponin I

## Troponin T and troponin I at acut coronary sendrom

Mehmet AVCIKÜÇÜK<sup>1</sup>, Fatih BAKIR<sup>1</sup>, Canan TOPÇUOĞLU<sup>1</sup>, Ali GÜÇTEKİN<sup>1</sup>

### ÖZET

**Amaç:** Troponinler, tropomiyozin ile birlikte iskelet ve kalp kası kasılmasının düzenlenmesinde rol alan yapısal proteinlerdir ve kalp kası hasarının duyarlı ve özgül belirteci oldukları bilinmektedir. Bu çalışmada, akut koroner sendromun erken dönem tanısında serum Troponin T ve Troponin I düzeylerinin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif tahmini değerler yönünden karşılaştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca akut myokart infarktüsünün erken döneminde (ilk altı saat içinde) troponinlerin kullanımı araştırılmıştır.

**Yöntem:** Çalışmamıza, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Acil Servisine göğüs ağrısı şikayetiyle başvuran ve kardiyoloji bölümünce izlemi yapılan 18-90 (ortalama 60,42) yaşları arasında 176 kişi dâhil edilmiştir. Serum troponin I düzeyleri Dade Behring Dimension analizöründe (Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, USA), troponin T düzeyleri Elecsys 2010 analizöründe (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) ölçülmüştür.

**Bulgular:** Troponin I için kesme noktası 1.84 ng/ml olarak belirlenmiş; duyarlılığı %80, özgüllüğü %90,9, pozitif tahmini değeri %80, negatif tahmini değeri %90,9 olarak bulunmuştur. Troponin T için kesme noktası 0,051 ng/ml olarak belirlenmiş; duyarlılığı %92,7, özgüllüğü %70,2, pozitif tahmini değeri %58,6, negatif tahmini değeri %95,5 olarak bulunmuştur. Myokart infarktüsü grubunu kontrol ve myokart infarktüsü dışı grubundan ayırt etmede ROC eğrisinde eğri altında kalan alan, troponin I'da 0,914 (0,871- 0,957) olarak, troponin T'de ise 0,887 (0,835- 0,939) olarak belirlenmiştir.

### ABSTRACT

**Objective:** Troponins and tropomyosins are not only the structural proteins that play roles in arrangement of skeletal and heart muscles, but also sensitive and spesific markers of heart muscle damage. In this study we aimed to compare the values of sensitivity, specifity, positive and negative predictive values of troponin T and troponin I which were used to early diagnose of acute coronary syndrome. We also investigated the useability of troponins in diagnoses of the early stage (first 6 hours) of acute myocardial infarction.

**Method:** In our study, 176 patients between the ages 18- 90 (average is 60,42) admitted to emergency unit of Training and Research Hospital of Ankara Numune Cardiology Unit with chest pain were investigated. Serum troponin I and serum troponin T levels were analysed by Dade Behring Dimension (Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, USA) and by Elecsys 2010 analyser (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland), respectively.

**Results:** For Troponin I cut of point was calculated as 1.84 ng/ml. Sensitivity 80%, spesifity 90.9% positive and negative predictive values were obtained as 80% and 90.9% respectively. For troponin T cut of point was calculated as 0.051 ng/ml. Sensitivity is 92.7%, spesifity 70.2%, positive and negative predictive values were obtained 58.6% and 95.5% respectively. In order to differantiate MI group with non- MI and control groups; the area under the ROC curve was 0.914 (0.871-0.957) for troponin I and 0.887 (0.835- 0.939) for troponin T.

<sup>1</sup> Sağlık Bakanlığı, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Bölümü, ANKARA

İletişim / Corresponding Author : Fatih BAKIR

Sağlık Bakanlığı, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Bölümü, ANKARA

Tel : +90 312 508 58 42

E-posta / E-mail : fbakir71@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 03.11.2011

Kabul Tarihi / Accepted : 24.06.2011

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2011.85047

Avcıküçük M, Bakır F, Topçuoğlu C, Güçtekin A. Akut koroner sendromda troponin T ve troponin I. Turk Hij Den Biyol Derg, 2011; 68 (3): 127-34.

**Sonuç:** Çalışmamıza göre akut myokart infarktüsü tanısı konan hasta serumlarında troponin I'nın özgüllüğü troponin T'den daha yüksek, troponin T'nin duyarlılığının ise troponin I'dan daha yüksek bulunmuştur. Ancak troponin T'nin yalancı pozitifliği de troponin I'dan daha yüksek olarak belirlenmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Akut koroner sendrom, Troponin T, Troponin I, duyarlılık, özgüllük

**Conclusion :** According to our study; in the patients who get the diagnosis of AMI we observed troponin I spesitivity is higher than troponin T but troponin T sensitivity is higher than Troponin I. We also observed that troponin false positive ratio was found higher than troponin I.

**Key Words:** Acute coronary syndrome, Troponin T, Troponin I, sensitivity, specificity

## GİRİŞ

Acil servislere göğüs ağrısı nedeni ile başvuran hastaların önemli bir kısmı akut koroner sendrom (AKS) tanısı almaktadır. AKS, koroner arterdeki aterosklerotik plağın yırtılması ile oluşan ve trombüsün koroner arteri total ya da subtotal tıkanması sonucu meydana gelen acil klinik tablodur (1, 2).

Troponinler, tropomiyozin ile birlikte iskelet ve kalp kası kasılmasının düzenlenmesinde rol alan yapısal proteinlerdir. Troponin T, I ve C'den oluşan troponin kompleksi, aktin ve miyozinin kalsiyum aracılığı ile etkileşimini sağlamak ve ince filamentlerde yer almaktadır (3-6). Kardiyak troponinler kalp kası hasarının duyarlı ve özgül belirteçleridir. 2000 yılında European Society of Cardiology/American College of Cardiology (ESC/ACC) tarafından akut miyokard infarktüsü (MI) tanısında, ACC / American Heart Association (AHA) tarafından ise anstabil anjina pektoris tanısı ve takibinde standart belirteç olarak kabul edilmişlerdir (3-5).

Klinik duyarlılıklarının yüksekliği, kalp dokusunda diğer belirteçlere kıyasla yüksek düzeyde bulunmaları, sağlıklı kişilerde ise dolaşım düzeylerinin çok düşük olmasına bağlıdır (3, 4). Özgüllüklerinin çok yüksek olması, kalbe spesifik kardiyak troponin T (cTnT) ve kardiyak troponin I (cTnI) izoformlarından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle iskelet kası hasarına bağlı olarak kreatinin kinaz (CK) ve CK-MB'de görülen yüksek değerlere bağlı olarak gelişen sorunlar kardiyak troponinler için söz konusu olmamaktadır (3-6). Kardiyak troponinlerin dolaşımdaki düzeylerinin,

7-14 gün gibi uzun sayılabilecek bir süreç boyunca yüksek seyretmesi, akut MI tanısı yanısıra, subakut MI tanısında da kullanımlarına olanak sağlamakta ve laktat dehidrogenaz (LDH) izoenzimlerine duyulan gereksinimi ortadan kaldırmaktadır.

cTnT için geliştirilmiş olan üç farklı kantitatif ve iki farklı kalitatif yöntem mevcuttur (7, 8). Kantitatif yöntemler aracılığı ile bugün kalp kası hasarının saptanabilme eşiği 0,50 µg/l'den 0,06 µg/l'ye kadar indirilmiştir. Ancak en çok kabul edilen eşik değeri 0,1 µg/l'dir. Yöntemlerin tümünde, üretici firmanın aynı olması nedeni ile aynı kalibratör ve benzer antikolar kullanılmakta, yöntem standardizasyonunda bir sorun ile karşılaşmamaktadır (9, 10).

cTnI tayini için geliştirilmiş olan 10'un üzerinde kantitatif ve dörtten fazla kalitatif yöntem mevcuttur. Farklı yöntemlerde hedef olarak seçilen bölgelerin değişik olabilmesi nedeni ile sonuçlarda 40-60 kata ulaşan farklılıklar gözlenebilmektedir (6, 9, 11-13). Bu durum belirgin bir karmaşaya neden olmakta ve eşik değerlerinin yöneme spesifik olarak belirlenmesini zorunlu kılmaktadır. cTnI analizini etkileyebilecek temel faktörler şu şekilde sıralanmaktadır:

1- cTnI'nin büyük bir bölümü cTnTIC veya cTnIC kompleksi halinde açığa çıkmaktadır. Seçilen antikolar, cTnTIC ve cTnIC komplekslerine ya da serbest cTnI'ya farklı oranlarda bağlanabileceğinden, bu durum yöntemin duyarlılığını etkilemektedir.

2- Hasarlı kalp kasında cTnI'nın fosforilasyonu bozulmakta ve buna bağlı olarak şekilsel bir değişiklik

görülmektedir. Bu değişikliğin, cTnI'ya spesifik olan aminoterminal uçta antikor bağlanışını etkileyip etkilemediği ise bilinmemektedir.

3- cTnI düzeyleri proteinin okside ya da redükte formda bulunuşuna bağlı olarak da değişiklik gösterebilmektedir. cTnI hasarlı dokudan redükte formda açığa çıksa bile, hava ile teması sonucunda beş saat içinde okside olabilmektedir.

4- cTnI'nın bir bölümü in situ yıkıma uğramakta ve bu durum antikor bağlanma bölgelerini etkileyerek plazmadaki protein düzeylerini değiştirebilmektedir (6, 13).

cTnI tayin yöntemleri ile ilgili olarak bir standardizasyon komitesi kurulmuş olup, bu komitenin amacı cTnI için uluslararası referans materyalleri belirlemek ve yöntemler arası farklılıkları ortadan kaldırmaktır. Ancak ortak bir kalibratör kullanılması, plazmada çeşitli formlarda bulunabilen cTnI için farklı antikorların kullanımından kaynaklanan sorunlara çözüm getirmeyecektir. Kesin çözüm, cTnI analizinde serbest ve kompleks halindeki TnI'yı eşit derecede tanıyabilecek bir antikor geliştirilmesidir (9, 11, 14, 15).

Bu çalışmada, acil servise gelen AKS'li hastaların erken tanısında kullanılan kardiyak belirteçler olan Troponin T ve Troponin I'nın duyarlılık, özgüllük, pozitif tahmini değer (PTD) ve negatif tahmini değer (NTD) yönünden karşılaştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca erken dönemde (ilk altı saat içinde) troponinlerin akut MI tanısı koyma veya ekarte etmedeki değeri araştırılmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamıza Ekim 2008 - Nisan 2009 tarihleri arasında Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Acil Servisine göğüs ağrısı şikayetiyle, ağrı başladıktan sonra ilk altı saatte başvuran hastalar ile başka nedenlerle acile başvuran, daha önce özgeçmişinde ve soygeçmişinde koroner arter hastalığına ait herhangi bir işareti olmayan, göğüs ağrısı şikayeti olmayan

ayrıca EKG bulgusu vermeyen bireyler arasından kardiyoloji bölümünce izlemi yapılan 176 hasta dahil edilmiştir. Akut MI kesin teşhisi için tanı kriteri olarak; klinik hikaye, elektrokardiyografi (EKG)'de tipik değişiklikler ve koroner anjiyografi sonuçları kullanılmıştır. Serum kardiyak belirteçlerden Troponin I ve Troponin T seyri değerlendirilmiştir.

Biyokimya tüplerine alınan örnekler 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumu ayrılmış, Troponin I testi bekletilmeden çalışılmıştır. Troponin T testi içinse serum örnekleri analiz zamanına kadar -20°C'de depolanmıştır. Hemolizli ve lipemik örnekler çalışmaya alınmamıştır.

Serum cTnI düzeyleri Dimension (Dade Behring Diagnostic, Amersfoort, The Netherlands) analizöründe sandviç prensibine dayanan tek adım enzim immün ölçüm yöntemiyle ölçülmüştür. Sırası ile ortalama değerleri 0,152 ng/ml, 0,454 ng/ml ve 1,92 ng/ml olan kalite kontrol örnekleri için %CV değerleri; %7,7, %4,2 ve %4,9 olarak bulunmuştur.

Serum cTnT düzeyleri Elecsys 2010 cihazında sandviç prensibine göre Roche Diagnostik Troponin T kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. ng/mlng/mlMean değeri 0,04 ng/ml, 0,647 ng/ml ve 6,04 ng/lolan serum havuzlarının %CV'leri sırası ile %3,4, %1,6 ve %1,5 olarak belirlenmiştir.

## İstatistiksel Analiz:

Verilerin analizi SPSS for Windows 11.5 paket programında yapılmıştır. Gruplar arasında cTnI ve cTnT düzeyleri yönünden farkın önemi Kruskal Wallis testi ile incelenmiştir. Sürekli değişkenlerin dağılımının normale yakın olup olmadığı Shapiro Wilk testiyle, varyansların homojenliği ise Levene testiyle incelenmiştir. Shapiro Wilk testine göre normal dağılıma yakın dağılım göstermeyen veya normal dağılıma yakın dağılım göstermesine karşın varyansların homojen olmadığı durumlarda, söz konusu değişkenler için parametrik olmayan varyans analizi (Kruskal Wallis testi) kullanılmıştır. Kruskal Wallis test istatistiği sonucunun önemli bulunması



halinde anlamlı farka neden olan grupları belirlemek amacıyla çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Kategorik değişkenler Pearson'un Ki-Kare testi ile değerlendirilmiştir.

MI grubunu kontrol ve MI dışı gruplarından ayırt etmede cTnI ve cTnT ölçümlerinin etkili olup olmadığı ROC eğrisi altında kalan alan hesaplanarak değerlendirilmiştir. Eğri altında kalan alanın önemli bulunması halinde cTnI ve cTnT düzeylerine ilişkin en iyi kesim noktası Youden İndeks kullanılarak saptanmıştır. Ayrıca, bu noktaya ilişkin duyarlılık, seçicilik, pozitif ve negatif tahmini değerler belirlenmiştir.

## BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 176 hasta, klinik bulguları, EKG değişiklikleri ve biyokimyasal belirteçlerine göre üç gruba ayrılmıştır (Tablo 1). Klinik bulgular, EKG değişiklikleri ve koroner anjiyografi sonuçlarına göre 55 MI grubu hastasının 18 tanesi ST elevasyonsuz MI,

25 tanesi anterior MI ve 12 tanesi inferior MI olarak gruplandırılmıştır. 52 hasta kontrol grubu, 69 hasta ise MI dışı grup olarak sınıflandırılmıştır. MI dışı grubu oluşturan 69 hastanın on beşine kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), on ikisine kronik böbrek yetmezliği (KBY), on birine konjestif kalp yetmezliği (KKY), yedisine serebro vasküler olay (SVO), dördüne hipertansiyon (HT), dördüne ise diabetes mellitus (DM) tanısı konmuştu. On altısı ise diğer nedenlere bağlı olarak hastanemize başvuran hastalardan oluşuyordu.

Serum cTnI ve cTnT düzeyi, MI grubunda kontrol grubu ve MI dışı grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Tablo 2).

Kesme (Cut off) değerleri yönünden her iki markere göre olguların MI düşündürdüğü durumlar MI olarak, diğer durumlar ise MI dışı ve kontrol grubu olarak sınıflandırıldığında MI grubu ile MI Dışı ve Kontrol gruplarını ayırt etmedeki etkinlikleri Çoklu Değişkenli Lojistik Regresyon analiziyle incelenmiştir. cTnI için

**Tablo 1.** Ekim 2008 - Nisan 2009 tarihleri arasında Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Acil Servisine göğüs ağrısı şikayetiyle başvuran 176 hastanın demografik özellikleri

Değişkenler	Kontrol Grubu (n=52)	MI Dışı Grubu (n=69)	MI Grubu (n=55)	p
Yaş	56,9±14,5	61,6±16,9	62,2±12,9	0,134 <sup>a</sup>
Cinsiyet E/K	24/28	32/37	36/19	0,062 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Tek Yönlü Varyans Analizi

<sup>b</sup> Pearson Ki-Kare testi

**Tablo 2.** Klinik bulgular, EKG değişiklikleri ve koroner anjiyografi sonuçlarına göre gruplanan 176 hastanın ilk 6. saatteki cTnI, cTnT serum düzeyleri

Değişkenler	Kontrol Grubu (n=52)	MI Grubu (n=55)	MI Dışı Grubu (n=69)	p <sup>a</sup>
cTnI	0 (0-0,15) <sup>b,c</sup>	9,93 (0,15-259,0) <sup>c,d</sup>	0,39 (0,15-11,82) <sup>b,d</sup>	<0,001
cTnT	0,01 (0,01-0,05) <sup>b,c</sup>	1,33 (0,10-28,0) <sup>c,d</sup>	0,06 (0,01-4,71) <sup>b,d</sup>	<0,001

<sup>a</sup> Kruskal Wallis testi

<sup>b</sup> Kontrol grubu ile MI dışı grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001)

<sup>c</sup> Kontrol grubu ile MI grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001)

<sup>d</sup> MI Dışı grubu ile MI grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001)



kesme noktası 1,84 olarak belirlenmiş ve duyarlılığı %80,0, özgüllüğü %90,9, PTD %80, NTD %90,9 olarak bulunmuştur. cTnT için ise kesme noktası 0,051 olarak saptanmış; duyarlılığı %92,7, özgüllüğü %70,2, PDT %58,6, NTD %95,5 olarak belirlenmiştir (Tablo 3).

MI grubunu, kontrol ve MI dışı grubundan ayırt etmede cTnI'ya ait ROC eğrisinde Eğri Altında Kalan Alan (EAKA) %95 güven aralığında 0,914 (0,871-0,957) olarak hesaplamıştır (Şekil 1). cTnT 'ya ait ROC eğrisinde EAKA ise 0,887 (0,835-0,939) olarak bulunmuştur (Şekil 2).

cTnI ve cTnT birlikte değerlendirildiğinde, duyarlılığı %80, özgüllüğü %92,5, PTD'si %83, NTD'si %91 olarak belirlenmiştir. Buna göre cTnI ve cTnT birlikte değerlendirildiğinde duyarlılık ve özgüllükte

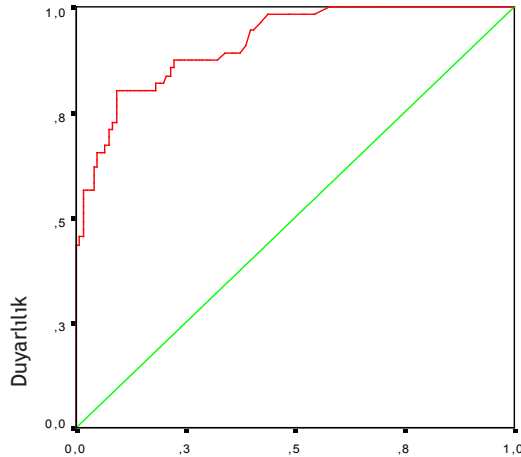
anlamli fark saptanamazken, cTnT'ye göre PTD'deki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş, NTD'deki fark ise anlamlı bulunmamıştır.

## TARTIŞMA

Koroner kalp hastalığı toplumda en çok görülen, en fazla ölüme yol açan ya da işgücü kaybı yaratan sağlık sorunu olma özelliğini tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de devam ettirmektedir. Günümüzde akut MI'de nekrozu belirlemede seçilen belirteçler kardiyak troponinlerdir. Her ne kadar cTn yüksekliği koroner iskeminin önemli bir göstergesi olsa da, başka klinik durumlarda da yükselebileceği göz önünde bulundurulmalı ve her zaman koroner iskemi lehine yorumlanmamalıdır.

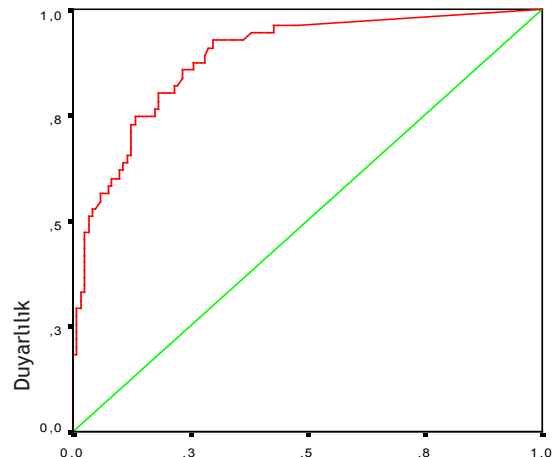
**Tablo 3.** MI grubunu, kontrol ve MI dışı grubundan ayırt etmede cTnI ve cTnT ölçümlerinin tanısal performans düzeyleri

Değişkenler	%95 Güven aralığı (GA)	Kesme Noktası	Duyarlılık	Seçicilik	PTD	NTD
cTnI	0,914 (0,871-0,957)	1,84	44/55 (%80,0)	110/121 (%90,9)	44/55 (%80,0)	110/121 (%90,9)
cTnT	0,887 (0,835-0,939)	0,051	51/55 (%92,7)	85/121 (%70,2)	51/87 (%58,6)	85/89 (%95,5)



1 - Seçicilik

**Şekil 1.** MI grubunu kontrol ve MI dışı grubundan ayırt etmede cTnI'ya ait ROC eğrisi



1 - Seçicilik

**Şekil 2.** MI grubunu, kontrol ve MI dışı grubundan ayırt etmede cTnT'ye ait ROC eğrisi

Toplumda cTn-T düzeyi yüksekliği ( $\geq 0,1 \mu\text{g/l}$ ) oranı %0,7 olarak bulunmuştur. Bunun sebepleri arasında sol ventrikül disfonksiyonu, diabetes mellitus, sol ventrikül hipertrofisi ve orta düzeyde renal yetersizlik sayılmaktadır (16). Tek başına sağlıklı bireylerde değil, herhangi bir nedenle hastaneye başvuran veya hastaneye yatırılan hastalarda cTn düzeylerinin yüksek ölçülebileceği bilinmektedir. Diğer bir çalışmada on aylık bir dönem içinde hastaneye çeşitli nedenlerle başvuran hastaların tümünde cTn-T düzeyi ölçülmüş ve cTn-T düzeyinin  $>0,1 \mu\text{g/l}$  ölçüldüğü 635 hastanın %53'üne akut koroner sendrom tanısı konurken, %41'inde cTn-T yüksekliğinin trombotik nedeni olmadığı görülmüş, %6'sında ise herhangi bir neden bulunamamıştır. Bu çalışmanın sonuçları, hastaneye başvuran hastaların önemli bir kısmında cTn yüksekliği olduğu halde, bunun nedeninin koroner arter hastalığı olmadığını göstermiştir (17).

Pulmoner embolili hastaların incelendiği bir çalışmada hastaların %40'ında cTn-I düzeyi yüksekliği saptanmış, sebebinin sağ ventrikül disfonksiyonu ve dilatasyonu olabileceği ifade edilmiştir (18). Akut perikardit ve myokardit vakalarında da troponinlerin artış gösterdiğine dair yayınlar bulunmaktadır (19, 20). Sepsis ve septik şoktaki hastalarda da troponin yüksekliği gözlenebilmektedir (21). Konjestif kalp yetmezliği, böbrek hastalıkları, ilaç toksikasyonu, kanser, kardiyak resüsitasyon, kardiyoversiyon vakalarında da troponin seviyelerinin arttığına dair çalışmalar mevcuttur (22-24).

Çalışmamızda da cTn yüksekliği saptandığı halde koroner bir hastalığı olmayan hastalar tespit edilmiştir. Bu hastaların büyük bir kısmının böbrek ve akciğer sorunu olan hastalar olduğu belirlenmiştir. Fitzmourice ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada numunede bulunan heterofilik antikorların hatalı biçimde cTnI seviyelerini arttırdığını bildirmişlerdir (25).

Ebell ve ark. yaptıkları çalışmada ağrı ortaya çıktıktan bir saat sonra cTnI ve cTnT için duyarlılığı %10-45, sekiz saat sonra %90; bir saat sonra cTnT için

özgüllüğü %87, iki saat sonra %80, cTnI için %95 olarak bulunmuştur (26). Pagani ve ark. ise her iki troponinin de akut MI için eşit düzeyde duyarlı olduğunu (%100 cTnI, %98 cTnT) ve özgülüğün cTnI için oldukça yüksek olduğunu (%68.1'e karşılık %78.7) saptamışlardır (27).

Lestin ve ark. MI şüphesi ile hastaneye gönderilen hastalarda 4 saat sonra cTnI ve cTnT karşılaştırması yapmış ve benzer tanısal duyarlılık (%100'e yakın) elde etmişlerdir (28).

Hamm ve ark. renal yetmezlik haricinde cTnT ve cTnI sonuçları arasında fark olmadığını belirtmiştir. Ciddi renal disfonksiyonlu hastalarda cTnT ve cTnI artışının miyokardiyal hasarla açıklanamayacağı, nedenlerin henüz net olmamakla beraber sitozolik havuzda daha yüksek oranda serbest olarak bulunan ve molekül ağırlığı yüksek cTnT artışının cTnI 'ya göre daha fazla olabileceği vurgulanmıştır (29).

Elmalı ve ark. yaptıkları çalışmada, her iki testin akut koroner sendrom tanısında birbirine üstünlüğünün olmadığını göstermişlerdir. Çalışma sonucunda cTnI testi duyarlılığı önceki çalışmalarla kıyaslanabilecek şekilde yüksek görünmekle birlikte, yalancı pozitiflik oranının fazla olması da dikkat çekmektedir. Kullanılan test hangisi olursa olsun sonuçların hastanın klinik parametreleri ile birlikte değerlendirilmesi gerektiği ortaya çıkmıştır. Her iki testte de sadece laboratuvar değerinin göz önüne alınmasının hatalı klinik işlemlere yol açabileceği vurgulanmıştır (30).

Bunun yanında kardiyak troponinlere karşı gelişebilecek otoantikörlerin varlığı da serum troponin düzeylerini etkileyebilen bir unsur olmaktadır. Hastaneye başvurma sırasında var olan veya takip sırasında gelişebilecek otoantikörler hem troponin seviyesinin yüksek ölçülmesine hem de yüksekliğin kalıcı olmasına yol açabilmektedir (31).

Troponin I testinin göğüs ağrısının başlangıcı ile testin sensitivite ve spesifitesinin ilişkisini inceleyen

çok merkezli bir çalışmada ağrı başlangıcından üç saat ve altı saat sonra alınan örnekler test edilmiştir. Troponin değerleri bu sürede artmış olduğu halde test performansında bir değişiklik gözlenmemiştir (32).

Ayrıca gruplar arası cinsiyet farklılıklarını değerlendirdiğimizde MI grubunda erkeklerin oranı diğer gruplara göre istatistiksel olarak fark göstermemekle beraber daha fazladır. Örnek büyüklüğü genişletildiği takdirde MI grubunda erkeklerin yaygınlığı diğer iki gruba göre anlamlı çıkabileceği gibi gruplar arasında kadın ve erkeklerin dağılımı daha homojen de bulunabilir. Bu nedenle cinsiyet farkını değerlendirebilmek için daha geniş seriler içeren çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

## TEŞEKKÜR

Çalışmamıza ait istatistik değerlendirmeleri yapmaktaki yardımlarından ötürü Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalından Uzman Salih ERGÖÇEN'e teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

1. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation*, 1995; 92: 657-71.
2. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ et al. The pathogenesis of coronary artery disease and acute coronary syndromes. *N Eng J Med*, 1992; 326: 242-50.
3. Sheehan P, Vasikaran SD. The evolving clinical role of cardiac troponins and new acute miyokardial infarction guidelines: Implications for the clinical laboratory. *Clin Biochem Rev*, 2001; 23: 52-65.
4. Wu AHB. Increased troponin in patients with sepsis and septic shock: myocardial necrosis or reversible myocardial depression? *Intensive Care Med*, 2001; 27: 959-61.
5. Morow DA, Rifai N, Tanasijevic MJ, Wybenga DR, Lemos JA, Antman EM. Clinical efficacy of three assays for cardiac troponin I for risk stratification in acute coronary syndromes: A thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) IIB substudy. *Clin Chem*, 2000; 46(4): 453-60.
6. Jaffe AS. A biomarker odyssey. *Clin Chim Acta*, 1999; 284(2): 197-211.
7. Christenson RH, Duh SH, Apple FS, Bodor GS, Bunk DM, Dalluge J et al. Standardization of cardiac troponin I assays: round robin of ten candidate reference materials. *Clin Chem*, 2001; 47(3): 431-7.
8. Ravkilde J. Risk stratification in acute coronary syndrome using cardiac troponin I. *Clin Chem*, 2000; 46(4): 443-4.
9. Fred SA. Clinical and analytical standardization issues confronting cardiac troponin I. *Clin Chem*, 1999; 45(1): 18-20.
10. Swaanenburg JCJM, Van-Brummen PJV, DeJongste MJL, Tiebosch ATHM. Content and distribution of troponin I, troponin T, myoglobin and alpha hydroxybutiric acid dehydrogenase in human heart. *Am J Clin Pathol*, 2001; 115(5): 770-7.

11. Labugger R, Organ L, Collier C, Atar D, Van Eyk JE. Extensive troponin I and T modification detected in serum from patients with acute myocardial infarction. *Circulation*, 2000; 102: 1221-6.
12. Tate JR, Heathcote D, Rayfield J, Hickman PE. The lack of standardization of cardiac troponin I assay systems. *Clin Chim Acta*, 1999; 284: 141-9.
13. Labugger R, Organ L, Collier C, Atar D, Van Eyk JE. Extensive troponin I and T modification detected in serum from patients with acute myocardial infarction. *Circulation*, 2000; 102: 1221-6.
14. Katruka AG, Berznikova AV, Filatov VL, Esakova TV, Kolosova OV, Petterson K et al. Degradation of cardiac troponin I: implication for reliable immunodetection. *Clin Chem*, 1998; 44(12): 2433-40.
15. Katruka a, Bereznikova A, filatov V, Esakova T. Biochemical factors influencing measurement of cardiac troponin I in serum. *Clin Chem Lab Med*, 1999; 37(11/12): 1091-5
16. Wallace TW, Abdullah SM, Drazner MH, Das SR, Khera A, McGuire DK, et al. Prevalence and determinants of troponin T elevation in the general population. *Circulation*, 2006; 113: 1958-65.
17. Alcalai R, Planer D, Culhaoglu A, Osman A, Pollak A, Lotan C. Acute coronary syndrome vs nonspecific troponin elevation: Clinical predictors and survival analysis. *Arch Intern Med*, 2007; 167: 276-81.
18. Meyer T, Blinder L, Hruska N, Luthe H. Cardiac Troponin I elevation in acute pulmonary embolism is associated with right ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol*, 2000; 36: 1632-6.
19. Karjalainen J, Heikkila J, 'Acute pericarditis': Myocardial enzyme release as evidence for myocarditis, *Am Heart J*, 1986; 111(3): 546-52
20. Roland R Brandt, Karsten Filzmaier, Peter Hanrath. Circulating cardiac troponin I in acute pericarditis. *Am J Cardiol*, 2001; 87(11): 1326-1328
21. Ammann P, Maggiorini M, Bertel O, Haenseler E, Joller-Jemelka HI, Oechslin E, et al. Troponin as a risk factor for mortality in critically ill patients without acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*, 2003; 41: 2004-9
22. Apple FS, Pearce LA, Smith SW, Kaczmarek JM, Murakami MM. Role of monitoring changes in sensitive cardiac troponin I assay results for early diagnosis of myocardial infarction and prediction of risk of adverse events. *Clin Chem*, 2009; 55: 930-7.
23. Jeremias A, Gibson CM. Narrative review: alternative causes for elevated cardiac troponin levels when ACSs are excluded. *Ann Intern Med*, 2005; 142: 786-91.
24. Tate JR. Troponin revisited 2008: assay performance. *Clin Chem Lab Med*, 2008; 46: 1489-500.
25. Fitzmaurice TF, Brown C, Nader Rifai, Alan H, Wu B, and Kiang-Teck J. Yeo False Increase of Cardiac Troponin I with Heterophilic Antibodies. *Clin Chem*, 1998; 44: 2212-4.
26. Ebell MH, Flewelling D, Flynn CA. A systematic review of Troponin T and I for diagnosing acute myocardial infarction. *J Fam Practice*, 2000; 49(6): 550-6.
27. Pagani F, Bonetti G, Panteghini M. Comparative study of cardiac Troponin I and T measurements in a routine extra-cardiological clinical setting. *J Clin Lab Anal*, 2001; 15: 210-4.
28. Lestin M, Hergert M, Lestin HG et al. Evaluation of the chemiluminescence immunoassays for the measurement of troponin I, myoglobin and CK-MB using the IMMULITE system in comparison to other measuring systems. *Clin Lab* 2000; 48(3-4); 211-21.
29. Hamm CW, Giannitsis E, Katus HA. Cardiac troponin elevations in patients without acute coronary syndrome. *Circulation*, 2002; 106; 2871-2.
30. Elmalı E, Karaören Z, Özdöl C, Akan OA. Akut Koroner Sendromlu Hastalarda Kardiyak Troponin T ve Troponin I'nın Karşılaştırılması. *Türk J Biochem* 2005; 30(3); 212-5.
31. Kim Pettersson, Susann Eriksson, Saara Wittfooth, Emilia Engström, Markku Nieminen and Juha Sinisalo. Autoantibodies to Cardiac Troponin Associate with Higher Initial Concentrations and Longer Release of Troponin I in Acute Coronary Syndrome Patients. *Clin Chem*, 2009; 55(5); 938-45.
32. Till Keller, Tanja Zeller, Dirk Peetz, et al. Sensitive Troponin I Assay in Early Diagnosis of Acute Myocardial Infarction. *N Engl J Med*, 2009; 361: 868-77.

## A case: Acute hepatitis associated with herbal (*Teucrium chamaedrys*) ingestion

### Bitki çayı (*Teucrium chamaedrys*) alımına bağlı gelişen bir akut hepatit olgusu

Onur URAL<sup>1</sup>, Özgür SATILMIŞ<sup>2</sup>, Gaye URAL<sup>3</sup>, Nebahat DİKİCİ<sup>1</sup>

#### ÖZET

Türkiye’de bitkisel tedavilere bağlı toksik bulgulara pek sık rastlanmamaktadır. Olgumuz 33 yaşında bir bayan hastadır. Sarılık şikayeti ile başvuran olgunun yaklaşık iki haftadır, her gün *Teucrium chamaedrys* bitkisini içeren bir çayı aldığı öğrenilmiştir. Hastada akut ikterik hepatit bulguları saptanmış ve akut hepatit yapabilecek başka bir neden tespit edilememiştir. *T. chamaedrys* alımı sonlandırılıp takip edilen hastada klinik iyileşme izlenmiş ve yaklaşık dokuz hafta içinde serum bilirubin, aminotransferaz, alkalin fosfataz düzeyleri normal sınırlara düşmüştür. Bu olgu *T. chamaedrys* alımının akut ikterik hepatite neden olabileceği, klinik olarak akut viral hepatitleri taklit edebileceği ve bitkisel tedavilerin genel olarak kabul edildiği kadar güvenli olmadığını göstermektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Bitkisel tedavi, *Teucrium chamaedrys*, hepatit

#### ABSTRACT

Herbal medicine toxicity has been infrequently reported in Turkey. Our case describes a 33-year-old woman who applied with jaundice. She acknowledged that she was taking daily a tea containing the plant *Teucrium chamaedrys* for two weeks. It was determined she had symptoms of acute icteric hepatitis. Other causes of acute hepatitis were excluded. After *T. chamaedrys* was not taken anymore by the patient, she recovered clinically and her serum bilirubin, aminotransferases and alkaline phosphatase values returned to normal levels within 9-weeks. This case suggests that *T. chamaedrys* intake may cause acute icteric hepatitis which might clinically mimic acute viral hepatitis, and it shows that herbal medicines are not as safe as they have been generally assumed.

**Key Words:** Herbal treatment, *Teucrium chamaedrys*, hepatitis

<sup>1</sup> Selçuk Üniversitesi, Selçuklu Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Ad, KONYA

<sup>2</sup> Çankırı Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, ÇANKIRI

<sup>3</sup> Konya Numune Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, KONYA

**İletişim / Corresponding Author :** Onur URAL

Selçuk Üniversitesi, Selçuklu Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Ad, KONYA

Tel : +90 332 241 50 00/40128

E-posta / E-mail : onurural64@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 04.12.2010

Kabul Tarihi / Accepted : 24.06.2011

## INTRODUCTION

Herbal remedies are becoming increasingly popular with the public as they are perceived as being beneficial, free of side effects, and complementary to Western medicines (1). To show that germander (*Teucrium chamaedrys*), a herbal medicine used to facilitate weight loss, might be hepatotoxic and to delineate the nature of the injury there have been a number of reports of hepatic toxicity involving different herbal products (2). Clinical and experimental studies have consistently incriminated the medicinal plant germander (*Teucrium chamaedrys* L.) in epidemic and sporadic cases of liver diseases (3). We present a case of acute hepatitis after ingestion of herbal tea over a period of several weeks. Among the plants consumed was *T. chamaedrys*. The hepatitis resolved after the intake of the herbal tea was stopped.

## CASE

A 33-year-old woman who started daily consumption of a tea containing the plant *T. chamaedrys* L. developed after two weeks an acute icteric hepatitis-like illness (Figure 1).



Figure 1. *Teucrium chamaedrys*

The patient reported weight loss which was the result she hoped to achieve by the use of the herbal tea. She was admitted to our clinic with acute icteric hepatitis, and had no past medical history of hepatitis. Anorexia, nausea, vomiting, malaise appeared at her admission to hospital for ten days before admission at the clinic. The patient also noticed skin and sclera icteric hyperpigmentation and hyperpigmentation of her urine for five days. She denied taking any drugs orally or intravenously and also denied alcohol abuse. However admitted using a herbal tea which appears to contain *Teucrium chamaedrys* L. she discontinued the use of the tea after her admission. Physical examination showed skin and sclera icteric hyperpigmentation and abdominal tenderness, hepatomegaly 2-3 cm. The patient had no sign of chronic liver diseases. Laboratory values revealed; alanine aminotransferase (ALT) 539 IU/l (normal 14-54 IU/l), aspartate aminotransferase (AST) 250 IU/l (normal 10-41 IU/l), gamma-glutamyltransferase (GGT) 40 IU/l (normal 7-50 IU/l), alkaline phosphatase (ALP) 177 IU/l (normal 40-150 IU/l), total bilirubin 2.5 mg/dl (normal 0.4-1.4 mg/dl), conjugated bilirubin 0.96 mg/dl (normal 0.1- 0.5 mg/dl), and triglycerides 74 mg/dl (normal 40-200 mg/dl). The peripheral leukocyte count increased to  $11.8 \times 10^9/L$  with 7% eosinophils (normal, <3% eosinophils). Other laboratory tests, including a serum urea nitrogen, creatine, glucose, electrolytes, total protein and albumin were normal. Coagulation studies were also normal. Serum hepatitis B surface antigen (HBsAg), antibody to hepatitis B surface antigen (anti-HBs), antibody to hepatitis B core antigen (anti-HBcAg) immunoglobulin M (IgM) anti hepatitis A virus (HAV) IgM, hepatitis E virus (HEV) IgM anti hepatitis C virus (HCV) and HCV-RNA were negative. Antinuclear antibodies (ANAs), anti smooth muscle antibodies (ASMAs), anti mitochondrial (AMA) and anti DNA antibodies were negative.



Serum alpha1-antitrypsin, ceruloplasmin and ferritin were within normal levels. Results of serologic tests for cytomegalovirus (CMV); and Epstein-Barr virus (EBV), herpes simplex virus (HSV) type 1 and 2, *Toxoplasma gondii* were negative. Serum gammaglobulin was normal. The patient recovered clinically, serum bilirubin and aminotransferases, ALP returned to normal levels within a 9-week time period (Figure 1).

## DISCUSSION

Several herbal medicines have also been reported to give hepatotoxic effects (4). Estimated percentage of the patients using alternative medications worldwide range from 4% to 50% (5). A recent study showed that only 40% of the people who use herbal medicines have informed their physicians (4). Herbal medicine toxicity has been infrequently reported in Turkey. Germander, a member of the Labiatae family, had been known for more than 2000 years as a herbal remedy and was applied for its assumed choleric and antiseptic properties (6). *T. chamaedrys* (germander), which is one of the most common and highly investigated species in the genus, is marketed for use in weight control, but there have been several reports from European countries, especially from the Mediterranean area, of hepatotoxicity (7) after use of *T. chamaedrys*. In our case the patient used *T. chamaedrys* also for weight control. Large-scale usage resulted in a number of reports in 1992 to the French Regional Centers of Pharmacovigilance on cases of germander-associated acute, chronic and even fulminant hepatitis (2,8).

*T. chamaedrys* has been thoroughly analyzed for its composition and chemical constituents and contains saponins, glycosides, flavonoids and a number of furan-containing neoclerodane diterpenoids (6). While saponins are supposed to be hepatoprotective, furans are well known to be powerful carcinogens to cholangiocellular epithelium as shown in animal

models (1,6). Recently, germander hepatotoxicity has been elucidated in animal studies in vivo and in vitro. In a study by Loeper et al. the authors showed that germander is toxic to the liver and that the toxicity is mediated via its furano neoclerodane diterpenoids. The animal experiments, which were performed in mice, proved the formation of toxic metabolites by cytochrome P450 3A and also showed that toxicity is enhanced by induction of cytochrome P450 3A and glutathione depletion (9). Two other cell culture studies raised the hypothesis that germander exerts its detrimental effects to liver cells by inducing apoptosis after the formation of large amounts of reactive metabolites (6). Most affected individuals were women attempting to lose weight, which most probably reflected the high rate of women taking germander rather than gender-specific susceptibility. The daily dosage averaged approximately 600-1600 mg day<sup>-1</sup> and hepatitis mostly developed after two months of daily use (10). The clinical picture resembles acute hepatitis with jaundice, markedly elevated transaminases, serum bilirubin levels, and impairment of hepatic synthetic function will occur 3 to 18 weeks after germander administration (2,6). After discontinuing the use of germander, jaundice disappeared within eight weeks and recovery was complete in 1.5 to 6 months. Germander readministration was followed by the prompt recurrence of hepatitis (2). The clinical and laboratory findings in this case of reference 2 were similar to our case. Therefore, cases of herbal medicine toxicity might remain unrecognized. Establishing a diagnosis of herbal hepatotoxicity can be difficult. In many instances, herbal hepatotoxins are thought to cause a hypersensitivity or idiosyncratic reaction (4). Liver biopsy specimens showed hepatocyte necrosis (2). Histologically, acute cytolytic hepatitis without characteristic features was detected and some patients with a more benign course of liver disease revealed patterns of chronic hepatitis with fibrosis and even cirrhosis. However, all patients recovered



after the discontinuation of the use of *T. capitatum* L except for those with cirrhosis, but relapsed under accidental re-exposure which took place due to the fact that germander had not yet been identified as the etiological toxin (6). The diagnosis of acute hepatitis associated with *T. chamaedrys* ingestion was based on review of the patient's history, clinical findings, laboratory abnormalities, exclusion of other acute hepatitis, the time association between the administration of the herbal tea and onset of symptoms and the fact that, after discontinuation of the herb, the patient improved and progressively recovered completely (11). The toxic effect of the plant suggests, an idiosyncratic adverse reaction to itself (or its metabolites) and may also be the pathogenic basis of the onset of acute hepatitis caused by *T. chamaedrys* in our case. Finally,

herbal medicine toxicity incidence may increase due to the growing consumption of these products. Therefore the intake of herbal remedies in patients whose liver tests present abnormalities have to be ruled out.

*T. chamaedrys* can cause acute icteric hepatitis which might be clinically confused with acute viral hepatitis. This case supports the view that herbal medicines are not always as safe as generally assumed.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to Osman Tugay for describing this herbal as *T. chamaedrys*, who is instructor of department of Biology, Faculty of Science and Art, Selcuk University, Konya, Turkey.

#### REFERENCES

1. Mallory MA, Lee SW, Kowdley KV. Abnormal liver test results on routine screening: How to evaluate, when to refer for a biopsy. *Postgrad Med*, 2004; 115: 53-62
2. Stickel F, Egerer G, Seitz HK. Hepatotoxicity of botanicals. *Public Health Nutr*, 2000; 3: 113-24.
3. Woolf GM, Petrovic LM, Rojter SE, Wainwright S, Villamil FG, Katkov WN et al. Acute hepatitis associated with the Chinese herbal product jin bu huan. *Ann Intern Med*, 1994; 121: 729-35.
4. Sanders D, Kennedy N, McKendrick MW. Monitoring the safety of herbal remedies. Herbal remedies have a heterogeneous nature. *BMJ*, 1995; 311: 1569.
5. Larrey D, Vial T, Pauwels A, Castot A, Biour M, David M et al. Hepatitis after germander (*Teucrium chamaedrys*) administration: another instance of herbal medicine hepatotoxicity. *Ann Intern Med*, 1992; 117: 165-6.
6. Dourakis SP, Papanikolaou IS, Tzemanakis EN, Hadziyannis SJ. Acute hepatitis associated with herb (*Teucrium capitatum* L.) administration. *Eur J Gastroenterol Hepato*, 2002;14:693-5.
7. Bedir E, Manyam R, Khan IA. Neo-clerodane diterpenoids and phenylethanoid glycosides from *Teucrium chamaedrys* L. *Phytochemistry*, 2003; 63:977-83.
8. Haller CA, Dyer JE, Ko R, Olson KR. Making a diagnosis of herbal-related toxic hepatitis. *West J Med*, 2002; 176: 39-44.
9. Loeper J, Descatoire V, Letteron P, Moulis C, Degott C, Dansette P et al. Hepatotoxicity of germander in mice. *Gastroenterol*, 1994; 106: 464-72.
10. Savona G, Garcia-Alvarez MC, Rodriguez B. Dihydroteugin, a neo-clerodane diterpenoid from *Teucrium chamaedrys*. *Phytochemistry*, 1982; 21: 721-3
11. Mostefa-Kara N, Pauwels A, Pines E, Biour M, Levy VG. Fatal hepatitis after herbal tea. *Lancet*, 1992; 340: 674.

## Current situation of Crimean Congo hemorrhagic fever (CCHF) in Anatolia and Balkan Peninsula

### Anadolu ve Balkan Yarımadası'nda Kırım Kongo kanamalı ateşi (KKKA)'nin güncel durumu

Yavuz UYAR<sup>1</sup>, Iva CHRISTOVA<sup>2</sup>, Anna PAPA<sup>3</sup>

#### ÖZET

Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA), özellikle Ixodid cinsi kene ısırığı (esas olarak *Hyalomma* cinsi) tarafından insanlara bulaşan viral bir hastalıktır. CCHFV, *Bunyaviridae* ailesinden *Nairovirus* cinsine aittir. KKKA virüsü segmentli, tek iplikli, negatif polariteli bir RNA virüsüdür. Hastalığın başlangıcında ani ateş, titreme, şiddetli baş ağrısı, sırt ağrısı ya da bacak ağrıları, kas ağrısı, mide bulantısı ve kusma gibi belirtiler olabilir. KKKA, ilk olarak eski Sovyetler Birliği ve Kongo'da tespit edilmiş olup, hızlıca Avrupa, Asya ve Afrika'nın büyük bölümüne yayılmıştır ve 30'dan fazla ülkede bildirimi yapılmıştır.

İklim değişiklikleri; kenelerin yaşam döngüsünü ve göçmen kuşların göç yollarını etkileyebilir, KKKA'ndan yoksun bölgelere virüs yayılımında ve kene sayısının artmasında rol alabilir. Tarım ve çiftçilik için arazi kullanımının genişletilmesi ve avcılık faaliyetlerindeki değişiklikler de KKKA insidansında rol oynayabilir. Hayvan ticareti ve nakli KKKA virüsü ile enfekte kenelerin endemik olmayan bölgelere transferine neden olarak konak-kene-virüs dinamiklerini etkileyebilir.

Son yıllarda, Balkanlar'da ve Türkiye'de KKKA epidemiyolojisi değişmektedir. Balkanlar endemik KKKA bölgesi olarak bilinir ve heryıl sporadik vakalar, hatta salgınlar bildirilir. Balkanlar ve Türkiye'de yıllık olarak tespit edilen insan KKKA vakalarının sayısı artmaktadır. Hastalık, Balkanlarda; Bulgaristan, Kosova ve Arnavutluk

#### ABSTRACT

Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) is a viral disease transmitted to humans mainly by bite of Ixodid ticks, mainly those of the *Hyalomma* genus. CCHFV belongs to the genus *Nairovirus* in the family *Bunyaviridae*. CCHF virus is a segmented, single stranded, negative sense and RNA viruses. The onset of the disease is very sudden, with symptoms such as fever, rigors, intense headache, chills, and backache or leg pains, myalgia, nausea, and vomiting. CCHF originally identified in the former Soviet Union and the Congo, has rapidly spread across large sections of Europe, Asia, and Africa, and has been reported in more than 30 countries.

The climatic changes may affect the life cycle of ticks and the routes of migratory birds, leading to tick abundance and virus distribution in CCHF-free areas. Extended use of land for agriculture and farming and changes in hunting activities play also a role in CCHF incidence, while livestock trade and movement may influence host-tick-virus dynamics resulting in transfer of CCHFV-infected ticks in non-endemic areas.

Recent years, the epidemiology of CCHF is changing in Balkans and Turkey. Balkan Peninsula is a known endemic CCHF area, and sporadic cases and even outbreaks are being reported every year. The annual number of human CCHF cases is increasing in Balkans and Turkey. While Bulgaria, Kosovo and Albania were

<sup>1</sup> National Laboratory for Arboviruses and Viral Hemorrhagic Fever Viruses, Virology Reference and Research Lab., Refik Saydam National Public Health Agency (RSNPHA), ANKARA, TURKEY

<sup>2</sup> National Reference Vector-borne Infections and Leptospirosis Lab., National Center of Infectious and Parasitic Diseases (NCIPD), Blvd. Yanko Sakazov 26, SOFIA, BULGARIA

<sup>3</sup> National Reference Laboratory for Arboviruses And Hemorrhagic Fever Viruses, A' Department of Microbiology, Medical School, Aristotle University of Thessaloniki (AUT), THESSALONIKI, GREECE

İletişim / Corresponding Author : Yavuz UYAR

Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hast. Araş. Müd., Viroloji Ref. ve Araş. Lab., Sıhhiye-ANKARA

Tel : +90 312 458 24 52

E-posta / E-mail : yavuz\_uyar@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 19.08.2011

Kabul Tarihi / Accepted : 27.09.2011

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2011.60352

Uyar Y, Christova I, Papa A. Current situation of Crimean Congo Hemorrhagic fever (CCHF) in Anatolia and Balkan Peninsula. Turk Hij Den Biyol Derg, 2011; 68 (3): 139-51.

bölgelerinde endemik olarak bilinirken, sadece son zamanlarda Türkiye’de (2002 yılında ve o zamandan beri, her yıl birçok vaka) ve Yunanistan’da (2008, ölümcül bir durumda) ortaya çıkmıştır.

KKKA virüsünün S segment tabanlı sekansında filogenetik ağaçta ayırt edilebilir yedi ana “clade” vardır. Şu ana kadar, Balkanlardaki suşların tamamı “Europe 1 clade” içinde yer almış, ancak Yunanistan ve son yıllarda Türkiye’den AP92 ve AP92-benzeri suşlar da bildirilmiştir. Türk suşlarda yapılan kapsamlı bir çalışma suşların iki ana “cluster” altında toplandığını ve bunlardan birinin iki alt “cluster” a bölündüğünü göstermiştir.

Bu derlemede, KKKA hastalığının Balkanlar ve Anadolu’daki güncel durumunun gözden geçirilmesini amaçlanmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** KKKA virüsü, Balkanlar, Anadolu, Türkiye

known endemic regions in Balkans, the disease emerged only recently in Turkey (in 2002, and since then, many cases every year) and in Greece (in 2008, one fatal case).

Seven main clades are distinguishable in the phylogenetic tree based on S segment sequences of CCHFV. Up to now all strains from Balkans belong into the Europe 1 clade, while in Greece, and, recently in Turkey, AP92 and AP92-like strains are also present. A detailed study on Turkish strains showed that they are grouped into two main clusters, each one further divided into two subclusters.

In this article, we were aimed to review of the current status of CCHF disease in the Balkans and Anatolia peninsula.

**Key Words:** CCHF virus, Balkans, Anatolia, Turkey

## INTRODUCTION

Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) is a viral disease transmitted to humans mainly by a bite of Ixodid ticks, usually those of the *Hyalomma* genus, associated with case fatality rate up to 30% (1). Endemic foci are present in Asia, Europe and Africa. During the recent years the epidemiology of CCHF is changing in Balkans and Turkey, as it emerged in new countries, like Greece, while the annual number of human CCHF cases is increasing in countries where it emerged recently, like Turkey.

Besides tick bite, the virus (CCHFV) can be transmitted by direct contact of infected blood or human and animal tissues; thus intra-family and nosocomial outbreaks have been reported in many countries. Due to this ability for human-to-human transmission, to cause infections in laboratory workers, and the severity of the disease in humans, CCHFV is included in the bioterrorism threat list and it is classified as a WHO Risk Group IV pathogen, meaning that Biosafety level 4 laboratories are required to work with this infectious virus.

## HISTORICAL PERSPECTIVES

CCHF originally identified in the former Soviet Union and the Congo, has rapidly spread across large sections of Europe, Asia, and Africa, and has been reported in more than 30 countries, thus being the most common among tick-borne viral diseases. The disease was first recognized as “Crimean hemorrhagic fever” in former Soviet Union at the end of World War II, when more than 200 Soviet military personnel and peasants fell ill in western Crimea (2). The etiological agent was first isolated from a febrile child in Belgian Congo (today Democratic Republic of Congo) in 1956 by physician Ghislaine Courtois, and was named “Congo virus” (3, 4). In 1969, Casals demonstrated antigenic similarity between the Crimean virus and the Congo virus that led to the finding of their identity (5, 6). Linkage of the place-names resulted in the current names of the disease and the virus.

A detailed review about the epidemiology of CCHF in Asia, Europe and Africa was published in 1979 by Hoogstraal (7). As he mentioned, “CCHFV is enzootic

in the Palearctic, Oriental, and Ethiopian Faunal Regions, chiefly in steppe, savannas, semidesert, and foothill biotopes where 1 or 2 *Hyalomma* species are the predominant ticks parasitizing domestic and wild animals". A great step forward the CCHF studies was the use of the newborn mouse virus isolation system. By this method the isolation of various CCHFV strains was successful, which were used for further characterization and classification. The Drozdov strain is one of the initial strains isolated in the USSR; it was isolated from a patient (Drozdov) in Astrakhan (8). In 1968, Drozdov strain was found identical to the Congo virus (strain 3010), resulting in the combination of names. In the same time period (1965) an outbreak in the Chinese province of Xinjiang was attributed to Xinjiang hemorrhagic fever virus (9) which was found to be similar to CCHF. Although initial studies on CCHF were performed in the 40s, recent phylogenetic and evolutionary studies have shown that CCHFV has been circulating for a long time, thus being an "ancient virus", and its most recent common ancestor existed around 1500-1100 BC (10, 11).

### THE ETIOLOGIC AGENT

CCHFV belongs to the genus *Nairovirus* in the family *Bunyaviridae*. Other genera in the family are bunyaviruses, hantaviruses, phleboviruses, and tospoviruses. Virions of the *Bunyaviridae* family are lipid-enveloped spherical particles, approximately 80-120 nm in diameter, with a tripartite negative sense single-stranded RNA genome (12). The three RNA segments of the CCHFV genome are named according to lengths as the small (S), medium (M) and large (L), each encapsulated separately and encoding the nucleocapsid (N) protein, the glycoprotein precursor - common ancestor of the two glycoproteins Gn and Gc, encodes an unusually large polyprotein (1,684 amino acids in length) and the RNA-dependent RNA polymerase, respectively.

N protein is the most abundant protein of CCHFV, and has several essential functions, such as protection

of viral RNA and participation in various processes in the replication cycle. Recently it was shown that the N protein can be subjected to cleavage by host cell caspases resulting in induction of apoptosis; thus, caspase-3-dependent cleavage of N protein may represent a host defense mechanism against lytic CCHFV infection (13).

Unlike other bunyaviruses, M and L RNA segments of nairoviruses are larger (14, 15). As other members of the family *Bunyaviridae*, CCHFV glycoproteins target to the Golgi apparatus, where most viral assembly takes place.

The virus glycoproteins play important role as receptors for virus adsorption and immune response induction. CCHFV glycoprotein biogenesis is considerably more complex than that of viruses in other genera of the family *Bunyaviridae*. A striking feature of CCHFV was a hyper-variable mucin-like region upstream of the N terminus of the mature Gn; its function remains unknown (16, 17). In addition, glycoprotein processing is unique, as the glycoprotein precursor undergoes complex proteolytic processing, and it is initially cleaved into two precursor proteins, PreGn and PreGc, which are subsequently post-translationally processed into the two mature glycoproteins Gn and Gc [6]. GP38, GP85, and GP160 are additional proteins synthesized from the virus M segment ORF in the endoplasmic reticulum. In the mature virion, the Gn glycoprotein contains a 176 residue ectodomain followed by a 24 residue transmembrane region and terminates in a long cytoplasmic tail consisting of approximately 100 residues (17, 18). The high cysteine content of the Gn cytoplasmic tail is partly due to the presence of dual, back to back  $\beta\beta\alpha$ -type zinc fingers, which was found to bind viral RNA, thus, have a likely role in virus assembly (19). All the CCHFV glycoproteins appear dependent on N-glycosylation of Gn for correct folding, localization and transport (20).

Efficient CCHFV helper virus-independent S, M, and L segment minigenome systems for analysis of

virus RNA and protein features involved in replication was recently reported (21). Using this system, it was found that the L protein has an ovarian tumor protease domain located in the N terminus, which was recently shown to be a functional protease, however, with no evidence of L protein autoproteolytic processing (21). The structure of this protease which has subsequently been implicated in downregulation of the type I interferon immune response, was recently elucidated (22).

## VECTORS AND RESERVOIRS

### 1. Vectors

CCHF virus circulates in nature in an enzootic tick–vertebrate–tick cycle; ticks carry the virus from animal to animal and from animal to human. Although CCHFV has been isolated from a variety of tick species, including 28 Ixodidae and 2 Argasidae spp., members of the genus *Hyalomma* (two-host ticks) are the main vectors of the infection in nature (7). Argasids do not facilitate virus replication and thus can not serve as vectors. Several ixodid tick species, including some members of the genera *Hyalomma*, *Rhipicephalus* and *Dermacentor*, can efficiently transmit CCHFV (7, 23); that means that they can acquire the virus through feeding on viremic host, maintain the virus through different stages of their life cycle, and transmit successfully the virus to the next host. However, *Hyalomma marginatum* is the principal and most efficient vector of CCHFV in Europe, while *H. asiaticum kozlovi* and *H. asiaticum asiaticum* are the principal vectors in Central Asia (24, 25). The ticks maintain a life-long infection and are competent reservoirs. Besides transstadial route of virus transmission, *Hyalomma* ticks show transovarial transmission determining its vector competence. In addition, ticks can be infected by co-feeding with infected ticks on uninfected host.

Climate changes may have a significant impact on the reproduction rate of the *Hyalomma* ticks, and warm winters combined by dry summers are

associated with higher tick activity and increased CCHF incidence (26). Global warming may change the epidemiological behaviour of CCHF and in particular it may create a great problem in CCHF prevalent areas by altering the ticks' growth patterns, as well as in areas free of CCHF, by redirecting the migration routes of birds -which host the affected ticks- to areas newly warmed by earth's altered temperature patterns (27).

### 2. Reservoirs

A wide variety of domestic and wild animals have the potential of being CCHFV hosts. Large herbivores serve as the principal reservoirs of the infection being the principal hosts of adult *Hyalomma* spp. ticks. Seroepidemiological studies have shown the highest antibody levels in large herbivores and no antibodies in birds. The birds are resistant to the infection, but some birds, like ostriches, are susceptible being readily parasitized by *Hyalomma* ticks and showing a high prevalence of the infection in endemic areas (28, 29). Migratory birds may carry infected ticks over long distances and thus may play an important role in CCHF dissemination (7, 30). Immature ticks prefer ground-feeding birds and small mammals (e.g. hares, and hedgehogs) that are capable to transmit further the virus transstadially (31). In general, CCHF infection is asymptomatic in all animal species, excluding new born laboratory mice (32). Occupational contact with infected livestock is a common cause of the disease (33, 34). Thus, risk groups include farmers, dairy workers, shepherds, veterinarians, agricultural workers and other persons in close contact with livestock and ticks.

## CLINICAL FEATURES

The disease's incubation period is generally short (2-9 days). According to Swanepoel et al. the incubation time after an infected tick bite is 3.2 days, after contact with blood or tissue of infected livestock is 5.0 days, and after contact with blood of a CCHF patient is 5.6 days (35). The onset of the

disease is very sudden, with symptoms such as fever, rigors, intense headache, chills, and backache or leg pains, myalgia, nausea, and vomiting (36). The typical course of CCHF has four phases: a) incubation phase (3-13 days), b) pre-haemorrhagic phase (1-7 days) characterized by high fever, myalgia, malaise; c) haemorrhagic phase, which on average lasts 2-3 days and starts with petechiae and bleeding from the nose, and from the gastrointestinal, genitourinary and respiratory systems and d) convalescence phase, for the survivors, which starts approximately after the 10th day of illness.

In some patients photophobia, somnolence and signs of meningism can occur. Tachycardia is a common sign, while lymphadenopathy is seen occasionally. Hepatomegaly and splenomegaly are seen in 20-40% and 14-23% of the cases, respectively (36). The case-fatality rate is 5-35% (36, 37).

### LABORATORY FINDINGS

Thrombocytopenia (platelet count  $< 150.000/\mu\text{L}$ ) is the main laboratory finding in CCHF, which is seen early, especially in fatal cases. Disseminated intravascular coagulopathy (DIC) is also noted early (38). Prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) are prolonged, the fibrinogen level is decreased, and fibrin degradation products (FDPs) are increased. Leucopenia and increased aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), lactate dehydrogenase (LDH), and creatinine phosphokinase (CK) are common findings in CCHF patients (36). The disordered laboratory tests returned to normal levels within 5-9 days among surviving patients (36).

Criteria predicting a fatal outcome include: 1. white blood cell (WBC) count  $\geq 10,000/\mu\text{L}$ , 2. platelet count (PLT)  $\leq 20,000/\mu\text{L}$ , 3. AST  $\geq 200$  U/L or ALT  $\geq 150$  U/L, 4. aPTT  $\geq 60$ s, 5. fibrinogen  $\leq 110$  mg/dL (35). These criteria were modified by excluding the criterion of WBC and modifying the level of transaminases to AST  $\geq 700$  U/L and ALT  $\geq 900$  U/L (39).

### DIAGNOSTIC METHODS

The clinical symptoms and patient medical history (living or traveling in endemic areas) and history of tick bite or exposure to blood, tissue or body fluids of infected livestock or CCHF patient, are the first indicators of CCHF (38). The methods used in the diagnosis of CCHF are: virus isolation, electron microscopy, serological tests and molecular techniques. In 2008 there were 20 laboratories with diagnostic capacities for CCHFV in Europe: 14 in EU Member States, 8 in the endemic regions of the Russian Federation, and one in Turkey; most of these laboratories perform IFA, ELISA, and/or molecular methods, whereas 8 had the capacity to isolate the virus (40).

#### 1. Virus isolation

CCHFV isolation procedures should be done in biosafety level 4 (BSL-4) laboratories (1). Isolation in cell culture is simple and rapid; however, it is less sensitive than the intracranial or intraperitoneal inoculation of blood from acute phase patients or homogenized ticks into newborn mice (36).

Since viremia is present during the first five days of the illness, the isolation is successful during the first 2 weeks of the disease. The virus replicates in primary-cell and line cell cultures, including LLC-MK2, Vero, chicken embryo-related cells (CER), SW-13, and BHK21 cells (36). Since cytopathic effects are lacking, the presence of the virus in cell cultures is confirmed by IFA and/or molecular methods.

#### 2. Antigen detection

The antigen detection is useful technique for the diagnosis of the disease during the acute phase. Immunocapture ELISA or reverse passive hemagglutination assay technique can be used for the detection of viral antigen of CCHFV. Antigen ELISA test was reported as more sensitive. Immunochemistry studies and in situ hybridization techniques have been also used for the detection of CCHFV in



formalin-fixed paraffin-embedded tissues, and found to be concordant with virus isolation (41).

### 3. Electron microscopy

Electron microscopy (EM) helps as initial testing. The virus particles are enveloped, spherical, with a diameter of 90-100 nm (1). Using EM particles resembling CCHFV had been found in ultrathin sections of the liver from two fatal cases (42). EM was used also in studies in China and in South Africa where virus particles with diameter of 85-105 nm were seen in blood samples of CCHF patients (9, 43).

### 4. Serology

IgG and IgM antibodies are detectable by IFA and ELISA methods from about 7 days after onset of the disease. The IgM declines to undetectable levels after 4 months, and IgG titers remain detectable for at least 5 years (44). Recent or current infection of disease is confirmed by demonstrating seroconversion, or a fourfold or greater increase in the antibody titer in paired serum samples, or IgM in a single sample by using MAC-ELISA (45).

Evaluation of PCR and IgM ELISA used for the laboratory diagnosis of CCHF cases in 2008 in Turkey, according the days after onset of the symptoms, PCR positivity was found in 83.4% among the samples taken during the first 5 days, and reduced to 67.5% in the samples taken between 6-10 days. The detection rate of CCHFV-IgM was up to 95% after the 5th day when PCR positivity was decreased. As expected, positivity is determined to be high by PCR in the first days, and ELISA-IgM after the 5th day (46).

The specific antibody response is rarely detectable in fatal CCHF cases. Therefore, diagnosis is usually based on the isolation of the virus from the serum or liver biopsy specimens, while viral RNA may be detected in patient's serum or liver tissue.

The ELISA test is generally low specific but more sensitive than IFA and neutralization tests (45).

### 5. Molecular methods

Molecular methods are especially helpful for the rapid diagnosis of CCHF. The assays are typically based on reverse transcriptase (RT) PCR methods using consensus nucleotide primers mainly of the S segment of the virus (47). The genetic material is usually extracted from serum, blood or autopsy tissues. Bodur et al. reported that CCHFV genome is detectable also in the saliva and urine (48).

Real-time RT-PCR assays have been developed, which have a lower contamination rate, and higher sensitivity and specificity than the conventional RT-PCR methods, while viral quantification is also possible (49-52).

Application of RT-PCR combined by sequencing and phylogenetic analysis gives useful data for the molecular epidemiology of CCHF. Such studies provided useful data about the circulation of the CCHFV strains in Balkans and in Turkey (53, 54).

## EPIDEMIOLOGY

Crimean-Congo hemorrhagic fever has been known for many years as widely distributed tick-borne infection in Africa, the Middle East, central and southwestern Asia, southern provinces of Russia and Balkans (35, 55-61). The geographic distribution of the disease is closely related to the global distribution of *Hyalomma* spp. ticks, having a 50° north latitude limit. While Bulgaria, Kosovo and Albania were known endemic regions in Balkans, the disease emerged only recently in Turkey (in 2002, and since then, many cases every year) and in Greece (in 2008, one fatal case). As mentioned previously, climatic changes may affect the life cycle of ticks and the routes of migratory birds, leading to tick abundance and virus distribution in "CCHF-free" areas. Extended use of land for agriculture and farming and changes in hunting activities play also a role in CCHF incidence, while livestock trade and movement may influence host-tick-virus dynamics resulting in transfer of CCHFV-infected ticks in non-endemic areas.



## 1. CCHF in Balkans

Balkan Peninsula is a known endemic CCHF area, and sporadic cases and even outbreaks are being reported every year. Investigations have shown that CCHF cases occur mostly in men and the most affected age group is that of 20-40 years. The presence of CCHF gradually rises in March and peaks in June and July. Farmers, shepherds, veterinarians, and health personnel are at increased risk for acquiring the infection. Soon after the initial description of CCHF in Crimea in 1944 (2), many cases were recognized in Bulgaria, and later on in former Yugoslavia and Albania. During 2001 a major outbreak was observed in Balkans, with cases being reported in Kosovo, Albania and Bulgaria (51, 58-60, 62-64). As the virus can be transmitted through direct contact of infected blood or tissues, nosocomial cases have been reported (58, 64), as well as intra-family infections (59)(Figure 1).

In Kosovo, the first CCHF cases were registered in 1957 as family outbreaks with 7 fatalities (65). Recent outbreaks occurred in 1995, 2001 and 2004 with 46, 31 and 16 laboratory confirmed cases, respectively (65). Cases were observed also in 2010.

In Bulgaria, CCHF was first described in 1952 in the province of Stara Zagora. Since then, approximately 1,600 cases have been reported with an overall fatality rate of 17% (Figure 1). Most cases were observed in Plovdiv and Pazardgik (central Bulgaria), Haskovo and Kardgali (southeastern Bulgaria), Shumen (northeastern Bulgaria), and Burgas (eastern Bulgaria) (66). In early spring 2008 a cluster of CCHF cases was observed in southwestern Bulgaria, an area previously considered as not endemic for CCHF (64). Four cases had been confirmed, one of them fatal. Two of the survivors had received hyperimmune gamma globulins against CCHFV. The seroprevalence in human population with a history of tick bite in the endemic areas is around 20% (60).

It has to be mentioned that a vaccine consisted of mouse brain preparation [inactivated by chloroform, heated at 58°C, and adsorbed on Al(OH)<sub>3</sub>] is applied

since 1974 in Bulgaria, in the frame of an immunization program for medical workers and military personnel in endemic areas. Recently the strain V42/81 which is currently used for the vaccine preparation was genetically characterized (67).

Endemic CCHF foci in Albania are in Kukes and Has districts, in the northeastern part of the country. During the spring and summer of 2001, an outbreak of eight CCHF confirmed cases occurred in Albania, with one nosocomial infection and a cluster of cases within a family (59). CCHFV was the cause of the disease in 38.2% of 34 CCHF suspected cases during 2003 to 2006; the rest cases were hantavirus infections (11.7%), leptospirosis (29.4%) and rickettsiosis (2.9%) cases (62). The seasonal and clinical overlapping among the four diseases is present in Balkans and Anatolia, suggesting that testing for these agents is necessary in cases with fever and haemorrhagic manifestations.

The first CCHF case in Greece was reported in 2008 in northeastern part of the country (53). Since then, no additional cases were observed. The prevalence of CCHFV antibodies in humans in northeastern Greece is 3.1% (68). A distinct CCHFV strain, AP92, was isolated from *Rhipicephalus bursa* ticks from goats in Vergina, a village in northern Greece (69). This strain is up to date the most divergent of the CCHFV strains. No human case caused by AP92 strain was detected in Greece. Four among 65 persons in the Vergina area were found IgG-positive; however, none of them recalled any symptoms resembling CCHF (70).

## 2. CCHF in Anatolia

CCHFV has probably been circulating in Turkey for many years; however, the first CCHF cases have been reported in May 2002 (71, 72). The prohibition of hunting and pasturing in the region between 1995 and 2001 led to an increase in the number of wild animals and ticks; this fact might be the cause of the CCHF outbreak (36, 73). Migratory birds might also play a role in the transmission of the virus. The first CCHF cases in Turkey were observed in Eastern Anatolia,

mainly in Tokat and Sivas provinces (74) (Figure 1). This region is a suitable habitat for extended tick activity with its moderate climate and vegetation (75).

According to the Turkish Ministry of Health 1820 CCHF cases occurred in the country (150 in 2002-2003, 249 in 2004, 266 in 2005, 438 in 2006, 717 in 2007) with a fatality rate of 5% (37). Two thirds of the cases were reported from 5 cities in the Mid-Eastern Anatolia, most of them in rural areas, while the male-female ratio was 1.13:1. Most cases (68.9%) reported a tick bite or tick contact, and 0.16% were nosocomial infections (37). The following years the number of cases increased dramatically; 1315 cases have been reported in 2008 and 1318 in 2009 (76). The most abundant tick species collected in Turkey are *Rhipicephalus bursa* and *Hyalomma marginatum*; CCHFV has been detected in both species (77, 78). The seroprevalence in high risk population in the Tokat and Sivas provinces is 12.8% (79). In the same region the animal seropositivity is 79% (74).

### GENETIC ANALYSIS OF CCHFV STRAINS IN ANATOLIA AND BALKANS

Although early serological studies revealed very few differences between CCHFV strains, nucleic acid sequence analysis has demonstrated extensive genetic diversity, particularly between viruses

from different geographic regions (80). Seven main clades are distinguishable in the phylogenetic tree based on S segment sequences: Africa 1, Africa 2, Africa 3, Asia 1, Asia 2, Europe 1 and Europe 2. "Asia 1" contains strains from the Middle East, and "Asia 2" contains strains from China, Kazakhstan, Tadjikistan and Uzbekistan. European strains are closely related and form one well-supported clade (Europe 1), with the exception of the Greek strain AP92, and the AP-92-like strains detected recently in Turkey, which form the "Europe 2" clade (81-83). Genetic differences among clades are approximately 20%, 31%, and 22% in the S, M, and L RNA segments, and 8%, 27%, and 10% in the nucleoprotein, glycoprotein precursor, and L protein, respectively. Up to now all strains from Balkans belong into the "Europe 1" clade (53, 58-60, 64, 71, 84, 85), while in Greece, and, recently in Turkey, AP92 and AP92-like strains are also present (53, 54, 86, 87). AP92-like strains are the most divergent of all CCHFV strains, and as they have not been associated with severe disease in humans, it seems to be less pathogenic than the strains of the other clades. Further studies will provide more information on this issue. A detailed study on Turkish strains showed that they are grouped into two main clusters, each one further divided into two subclusters (54).



Figure 1. The map shows distribution of CCHF cases (blue colored) in Balkan and Anatolian Peninsula.

Differences in ticks and vertebrate hosts in distant geographic regions led to differences in evolution of the virus. Although the genetic diversity among clades is high, CCHFV is a very stable virus with evolutionary rates  $0.34 \times 10^{-4}$ ,  $1.22 \times 10^{-4}$  and  $1.01 \times 10^{-4}$  for the S, M and L segments, respectively (10). Mutation, recombination and reassortment events play a role in the selective forces and the evolutionary history of the virus, resulting in increased complexity of the phylogeny (81, 88, 89).

### ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported by grant EU-7 Framework project (Crimean Congo Hemorrhagic Fever; Modern Approaches to Diagnostics, Epidemiology, Prevention, Therapy and Preparedness, Project No: 2010- 260427).

### REFERENCES

1. Papa A. Crimean-Congo hemorrhagic fever and hantavirus infections. In: Maltezou H, Gikas A, editors. Tropical and Emerging Infectious Diseases. Kerala, India: Research Signpost; 2010. p. 49-73.
2. Chumakov MP. A new tick-borne virus disease—Crimean hemorrhagic fever (acute infectious capillary toxicosis) In: Sokolov AE, Chumakov MP, Kolachev AA, editors. Crimean Hemorrhagic Fever (Acute Infectious Capillary Toxicosis). Izdanie Otdel'noj Primorskoj Armii, Simferopol. USSR 1945. p. 13-43.
3. Simpson DI, Knight EM, Courtois G, Williams MC, Weinbren MP, Kibukamu- soke JW. Congo virus: a hitherto undescribed virus occurring in Africa I. Human isolations—clinical notes. East Afr Med J, 1967; 44: 86-92.
4. Simpson DIH, Williams MC, Woodal IP. Four cases of human infection with the Congo agent East Afr Virus Res Inst Rep. 1965: 27-8.
5. Casals J. Antigenic similarity between the virus causing Crimean hemorrhagic fever and Congo virus. Proc Soc Exp Biol Med, 1969; 131(1): 233-6.
6. Woodall JP, Williams MC, Simpson DI. Congo virus - a hitherto undescribed virus occurring in Africa. II. Identification studies East Afr Med J, 1967; 44: 93-8.
7. Hoogstraal H. The epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. J Med Entomol, 1979;15(4): 307-417.
8. Butenko AM, Karganova G. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in Russia and other countries of the former Soviet Union. In: Ergonul O, Whitehouse CA, editors. Crimean Congo Hemorrhagic Fever. A Global Perspective. Dordrecht: Springer; 2007. p. 99-114.
9. Yen YC, Kong LX, Lee L, Zhang YQ, Li F, Cai BJ, et al. Characteristics of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (Xinjiang strain) in China. Am J Trop Med Hyg, 1985; 34(6): 1179-82.

### CONCLUSIONS

Given the abundance of *Hyalomma* and *Rhipicephalus* ticks, the numerous animals that can serve as hosts, and the favorable climate and ecologic parameters in Balkans and Anatolia, CCHF is an example of a vector-borne disease dispersing widely and rapidly in this area. There are models which show probability of CCHF extending to other countries around the Mediterranean basin suggesting that the vector, veterinarian, and human surveillance should be enhanced (90). Thus, prevention measures, early detection, and epidemiological surveillance are very important for the control of CCHF.

10. Anagnostou V, Papa A. Evolution of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever virus. *Infect Genet Evol*, 2009; 9(5): 948-54.
11. Carroll SA, Bird BH, Rollin PE, Nichol ST. Ancient common ancestry of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Mol Phylogenet Evol*, 2010; 55(3): 1103-10
12. Schmaljohn CS, Nichol ST. Bunyaviridae. In *Fields Virology*, Edited by: Knipe DM, Howley PM. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins, 5th edition. 2007; Volume 2: 1741-89.
13. Karlberg H, Tan YJ, Mirazimi A. Induction of caspase activation and cleavage of the viral nucleocapsid protein in different cell types during Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infection. *J Biol Chem*, 2011; 286(5): 3227-34.
14. Papa A, Ma B, Kouidou S, Tang Q, Hang C, Antoniadis A. Genetic characterization of the M RNA segment of Crimean Congo hemorrhagic fever virus strains, China. *Emerg Infect Dis*, 2002; 8(1): 50-3.
15. Honig JE, Osborne JC, Nichol ST. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus genome L RNA segment and encoded protein. *Virology*, 2004; 321(1): 29-35.
16. Papa A, Papadimitriou E, Bozovic B, Antoniadis A. Genetic characterization of the M RNA segment of a Balkan Crimean-Congo hemorrhagic fever virus strain. *J Med Virol*, 2005; 75(3): 466-9.
17. Sanchez AJ, Vincent MJ, Nichol ST. Characterization of the glycoproteins of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Virol*, 2002; 76(14): 7263-75.
18. Altamura LA, Bertolotti-Ciarlet A, Teigler J, Paragas J, Schmaljohn CS, Doms RW. Identification of a novel C-terminal cleavage of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus PreGN that leads to generation of an NSM protein. *J Virol*, 2007; 81(12): 6632-42.
19. Estrada DF, De Guzman RN. Structural characterization of the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus Gn tail provides insight into virus assembly. *J Biol Chem*, 2011; 286(24): 21678-86.
20. Erickson BR, Deyde V, Sanchez AJ, Vincent MJ, Nichol ST. N-linked glycosylation of Gn (but not Gc) is important for Crimean Congo hemorrhagic fever virus glycoprotein localization and transport. *Virology*, 2007; 361(2): 348-55.
21. Bergeron E, Albarino CG, Khristova ML, Nichol ST. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus-encoded ovarian tumor protease activity is dispensable for virus RNA polymerase function. *J Virol*, 2010; 84(1): 216-26.
22. Capodagli GC, McKercher MA, Baker EA, Masters EM, Brunzelle JS, Pegan SD. Structural analysis of a viral ovarian tumor domain protease from the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in complex with covalently bonded ubiquitin. *J Virol*, 2011; 85(7): 3621-30.
23. Logan TM, Linthicum KJ, Bailey CL, Watts DM, Moulton JR. Experimental transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by *Hyalomma truncatum* Koch. *Am J Trop Med Hyg*, 1989; 40(2): 207-12.
24. Xia H, Li P, Yang J, Pan L, Zhao J, Wang Z, et al. Epidemiological survey of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Yunnan, China, 2008. *Int J Infect Dis*, 2011; 15(7): e459-63.
25. Yaser SA, Sadegh C, Zakkyeh T, Hassan V, Maryam M, Ali OM, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever: a molecular survey on hard ticks (Ixodidae) in Yazd province, Iran. *Asian Pac J Trop Med*, 2011; 4(1): 61-3.
26. Estrada-Pena A. Forecasting habitat suitability for ticks and prevention of tick-borne diseases. *Vet Parasitol*, 2001; 98(1-3): 111-32.
27. Purnak T, Selvi NA, Altundag K. Global warming may increase the incidence and geographic range of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. *Med Hypotheses*, 2007; 68(4): 924-5.
28. Capua I. Crimean-Congo haemorrhagic fever in ostriches: A public health risk for countries of the European Union? *Avian Pathol*, 1998; 27(2): 117-20.
29. Shepherd AJ, Swanepoel R, Leman PA, Shepherd SP. Field and laboratory investigation of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus (Nairovirus, family Bunyaviridae) infection in birds. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1987; 81(6): 1004-7.
30. Estrada-Pena A, Zatansever Z, Gargili A, Aktas M, Uzun R, Ergonul O, et al. Modeling the spatial distribution of crimean-congo hemorrhagic fever outbreaks in Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2007; 7(4): 667-78.
31. Apanaskevich DA, Horak IG. The genus *Hyalomma* Koch, 1844. i. reinstatement of *Hyalomma* (euhyalomma) glabrum Delpy, 1949 (Acari, Ixodidae) as a valid species with a redescription of the adults, the first description of its immature stages and notes on its biology. *Onderstepoort J Vet Res*, 2006; 73(1): 1-12.
32. Shepherd AJ, Swanepoel R, Shepherd SP, McGillivray GM, Searle LA. Antibody to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in wild mammals from southern Africa. *Am J Trop Med Hyg*, 1987; 36(1): 133-42.

33. Chapman LE, Wilson ML, Hall DB, LeGuanno B, Dykstra EA, Ba K, et al. Risk factors for Crimean-Congo hemorrhagic fever in rural northern Senegal. *J Infect Dis*, 1991; 164(4): 686-92.
34. Swanepoel R, Shepherd AJ, Leman PA, Shepherd SP. Investigations following initial recognition of Crimean-Congo haemorrhagic fever in South Africa and the diagnosis of 2 further cases. *S Afr Med J*, 1985; 68(9): 638-41.
35. Swanepoel R, Shepherd AJ, Leman PA, Shepherd SP, McGillivray GM, Erasmus MJ, et al. Epidemiologic and clinical features of Crimean-Congo hemorrhagic fever in southern Africa. *Am J Trop Med Hyg*, 1987; 36(1): 120-32.
36. Ergonul O. Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Lancet Infect Dis*, 2006; 6(4): 203-14.
37. Yilmaz GR, Buzgan T, Irmak H, Safran A, Uzun R, Cevik MA, et al. The epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey, 2002-2007. *Int J Infect Dis*, 2009; 13(3): 380-6.
38. Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Res*, 2004; 64(3): 145-60.
39. Ergonul O, Celikbas A, Baykam N, Eren S, Dokuzoguz B. Analysis of risk-factors among patients with Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection: severity criteria revisited. *Clin Microbiol Infect*, 2006; 12(6): 551-4.
40. Maltezou HC, Andonova L, Andraghetti R, Bouloy M, Ergonul O, Jongejan F, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Europe: current situation calls for preparedness. *Euro Surveill*, 2010; 15(10): 19504.
41. Burt FJ, Swanepoel R, Shieh WJ, Smith JF, Leman PA, Greer PW, et al. Immunohistochemical and in situ localization of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) virus in human tissues and implications for CCHF pathogenesis. *Arch Pathol Lab Med*, 1997; 121(8): 839-46.
42. Tantawi HH, Al-Moslih MI, Al-Janabi NY, Al-Bana AS, Mahmud MI, Jurji F, et al. Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Iraq: isolation, identification and electron microscopy. *Acta Virol*, 1980; 24(6): 464-7.
43. Joubert JR, King JB, Rossouw DJ, Cooper R. A nosocomial outbreak of Crimean-Congo haemorrhagic fever at Tygerberg Hospital. Part III. Clinical pathology and pathogenesis. *S Afr Med J*, 1985; 68(10): 722-8.
44. Shepherd AJ, Swanepoel R, Leman PA. Antibody response in Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Rev Infect Dis*, 1989; 11 Suppl 4: S801-6.
45. Burt FJ, Leman PA, Abbott JC, Swanepoel R. Serodiagnosis of Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Epidemiol Infect*, 1994; 113(3): 551-62.
46. Uyar Y, Carhan A, Albayrak N, Altas AB. [Evaluation of PCR and ELISA-IgM results in the laboratory diagnosis of Crimean-Congo haemorrhagic fever cases in 2008 in Turkey]. *Mikrobiyol Bul*, 2010; 44(1): 57-64.
47. Schwarz TF, Nsanze H, Longson M, Nitschko H, Gilch S, Shurie H, et al. Polymerase chain reaction for diagnosis and identification of distinct variants of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in the United Arab Emirates. *Am J Trop Med Hyg*, 1996; 55(2): 190-6.
48. Bodur H, Akinci E, Onguru P, Carhan A, Uyar Y, Tanrici A, et al. Detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus genome in saliva and urine. *Int J Infect Dis*, 2010; 14(3): e247-9.
49. Drosten C, Gottig S, Schilling S, Asper M, Panning M, Schmitz H, et al. Rapid detection and quantification of RNA of Ebola and Marburg viruses, Lassa virus, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Rift Valley fever virus, dengue virus, and yellow fever virus by real-time reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol*, 2002; 40(7): 2323-30.
50. Papa A, Drosten C, Bino S, Papadimitriou E, Panning M, Velo E, et al. Viral load and Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Emerg Infect Dis*, 2007; 13(5): 805-6.
51. Duh D, Saksida A, Petrovec M, Dedushaj I, Avsic-Zupanc T. Novel one-step real-time RT-PCR assay for rapid and specific diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever encountered in the Balkans. *J Virol Methods*, 2006; 133(2): 175-9.
52. Yapar M, Aydogan H, Pahsa A, Besirbellioglu BA, Bodur H, Basustaoglu AC, et al. Rapid and quantitative detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by one-step real-time reverse transcriptase-PCR. *Jpn J Infect Dis*, 2005; 58(6): 358-62.
53. Papa A, Dalla V, Papadimitriou E, Kartalis GN, Antoniadis A. Emergence of Crimean-Congo haemorrhagic fever in Greece. *Clin Microbiol Infect*, 2010; 16(7): 843-7.
54. Ozkaya E, Dincer E, Carhan A, Uyar Y, Ertek M, Whitehouse CA, et al. Molecular epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Turkey: occurrence of local topotype. *Virus Res*, 2010; 149(1): 64-70.
55. Chinikar S. Crimean-Congo hemorrhagic fever infection in Iran. In: Ergonul O, Whitehouse CA, editors. *Crimean Congo Hemorrhagic Fever. A Global Perspective*.



56. Sun S, Dai X, Aishan M, Wang X, Meng W, Feng C, et al. Epidemiology and phylogenetic analysis of Crimean-Congo hemorrhagic fever viruses in xinjiang, china. *J Clin Microbiol*, 2009; 47(8): 2536-43.
57. Yashina L, Petrova I, Seregin S, Vyshemirskii O, Lvov D, Aristova V, et al. Genetic variability of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Russia and Central Asia. *J Gen Virol*, 2003; 84(Pt 5): 1199-206.
58. Papa A, Bozovi B, Pavlidou V, Papadimitriou E, Pelemis M, Antoniadis A. Genetic detection and isolation of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Kosovo, Yugoslavia. *Emerg Infect Dis*, 2002; 8(8): 852-4.
59. Papa A, Bino S, Llagami A, Brahimaj B, Papadimitriou E, Pavlidou V, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Albania, 2001. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2002; 21(8): 603-6.
60. Papa A, Christova I, Papadimitriou E, Antoniadis A. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Bulgaria. *Emerg Infect Dis*, 2004; 10(8): 1465-7.
61. Papa A, Maltezou HC, Tsiodras S, Dalla VG, Papadimitriou T, Pierrotsakos I, et al. A case of Crimean-Congo haemorrhagic fever in Greece, June 2008. *Euro Surveill*, 2008; 13(33).
62. Papa A, Bino S, Papadimitriou E, Velo E, Dhimolea M, Antoniadis A. Suspected Crimean Congo Haemorrhagic Fever cases in Albania. *Scand J Infect Dis*, 2008; 40(11-12): 978-80.
63. Ahmeti S, Raka L. Crimean-Congo haemorrhagic fever in Kosova : a fatal case report. *Viol J*, 2006; 3: 85.
64. Christova I, Di Caro A, Papa A, Castilletti C, Andonova L, Kalvatchev N, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever, southwestern Bulgaria. *Emerg Infect Dis*, 2009; 15(6): 983-5.
65. Humolli I, Dedushaj I, Zupanac TA, Mucaj S. Epidemiological, serological and herd immunity of Crimean-Congo haemorrhagic fever in Kosovo. *Med Arh*, 2010; 64(2): 91-3.
66. Vasilenko S, Chumakov M, Katzarov G, Mihailov A, Levi V, Kebedgiev G, et al. Investigations on Congo-Crimean hemorrhagic fever in Bulgaria II. Serological examinations of people and animals in endemic and nonendemic for CCHF areas [article in Bulgarian]. *Epidemiology, Microbiology, and Infectious Diseases*, 1971; 8: 150-6.
67. Papa A, Papadimitriou E, Christova I. The Bulgarian vaccine Crimean-Congo haemorrhagic fever virus strain. *Scand J Infect Dis*, 2011; 43(3): 225-9.
68. Papa A, Tzala E, Maltezou HC. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, northeastern Greece. *Emerg Infect Dis*, 2011; 17(1): 141-3.
69. Papadopoulos O, Koptopoulos G. Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) in Greece: Isolation of the virus from *Rhipicephalus bursa* ticks and a preliminary serological survey. In: Vesenjak-Hirjan Jea (ed.) *Arboviruses in the Mediterranean Countries*. Gustav Fisher Verlag, Stuttgart, Yugoslavia.; 1980. p. 117-121.
70. Antoniadis A, Casals J. Serological evidence of human infection with Congo-Crimean hemorrhagic fever virus in Greece. *Am J Trop Med Hyg*, 1982; 31(5): 1066-7.
71. Karti SS, Odabasi Z, Kortan V, Yilmaz M, Sonmez M, Caylan R, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey. *Emerg Infect Dis*, 2004; 10(8): 1379-84.
72. Gozalan A, Esen B, Fitzner J, Tapar FS, Ozkan AP, Georges-Courbot MC, et al. Crimean-Congo haemorrhagic fever cases in Turkey. *Scand J Infect Dis*, 2007; 39(4): 332-6.
73. Bakir M, Ugurlu M, Dokuzoguz B, Bodur H, Tasyaran MA, Vahaboglu H. Crimean-Congo haemorrhagic fever outbreak in Middle Anatolia: a multicentre study of clinical features and outcome measures. *J Med Microbiol*, 2005; 54(Pt 4): 385-9.
74. Vatansever Z, Uzun R, Estrada-Pena A, Ergonul O. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in Turkey. In: Ergonul O, Whitehouse CA, editors. *Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. A global Perspective*. Dordrecht; 2007. p. 59-74.
75. Bursali A, Tekin S, Keskin A, Ekici M, Dundar E. Species diversity of ixodid ticks feeding on humans in Amasya, Turkey: seasonal abundance and presence of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Med Entomol*, 2011; 48(1): 85-93.
76. Leblebicioglu H. Crimean-Congo haemorrhagic fever in Eurasia. *Int J Antimicrob Agents*, 2010; 36 Suppl 1:543-6.
77. Ozdarendeli A, Aydin K, Tonbak S, Aktas M, Altay K, Koksali I, et al. Genetic analysis of the M RNA segment of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus strains in Turkey. *Arch Virol*, 2008; 153(1): 37-44.
78. Tonbak S, Aktas M, Altay K, Azkur AK, Kalkan A, Bolat Y, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: genetic analysis and tick survey in Turkey. *J Clin Microbiol*, 2006; 44(11): 4120-4.
79. Gunes T, Engin A, Poyraz O, Elaldi N, Kaya S, Dokmetas I, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in high-risk population, Turkey. *Emerg Infect Dis*, 2009; 15(3): 461-4.

80. Burt FJ, Swanepoel R. Molecular epidemiology of African and Asian Crimean-Congo haemorrhagic fever isolates. *Epidemiol Infect*, 2005; 133(4): 659-66.
81. Deyde VM, Khristova ML, Rollin PE, Ksiazek TG, Nichol ST. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus genomics and global diversity. *J Virol*, 2006; 80(17): 8834-42.
82. Hewson R, Chamberlain J, Mioulet V, Lloyd G, Jamil B, Hasan R, et al. Crimean-Congo haemorrhagic fever virus: sequence analysis of the small RNA segments from a collection of viruses world wide. *Virus Res*, 2004; 102(2): 185-9.
83. Papa A. Genetic diversity in Crimean-Congo Haemorrhagic Fever virus. *Arbo-Zoonet News*, 2009; 16-18.
84. Duh D, Nichol ST, Khristova ML, Saksida A, Hafner-Bratkovic I, Petrovec M, et al. The complete genome sequence of a Crimean-Congo hemorrhagic fever virus isolated from an endemic region in Kosovo. *Viol J*, 2008; 5: 7.
85. Ozdarendeli A, Canakoglu N, Berber E, Aydin K, Tonbak S, Ertek M, et al. The complete genome analysis of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus isolated in Turkey. *Virus Res*, 2010; 147(2): 288-93.
86. Midilli K, Gargili A, Ergonul O, Eleveli M, Ergin S, Turan N, et al. The first clinical case due to AP92 like strain of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever virus and a field survey. *BMC Infect Dis*, 2009; 9: 90.
87. Eleveli M, Ozkul AA, Civilibal M, Midilli K, Gargili A, Duru NS. A newly identified Crimean-Congo hemorrhagic fever virus strain in Turkey. *Int J Infect Dis*, 2009; 14 Suppl 3: e213-6.
88. Hewson R, Gmyl A, Gmyl L, Smirnova SE, Karganova G, Jamil B, et al. Evidence of segment reassortment in Crimean-Congo haemorrhagic fever virus. *J Gen Virol*, 2004; 85(Pt 10): 3059-70.
89. Lukashev AN. Evidence for recombination in Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Gen Virol*, 2005; 86(Pt 8): 2333-8.
90. Maltezou HC, Papa A. Crimean-Congo hemorrhagic fever: risk for emergence of new endemic foci in Europe? *Travel Med Infect Dis*, 2010; 8(3): 139-43.



# Kanser hastalarında farmakogenetik uygulamaları ve farmakoekonomi

## Pharmacogenetic applications and in pharmacoeconomics in cancer patients

Yasemin BASKIN<sup>1</sup>,Gizem ÇALIBAŞI<sup>1</sup>

### ÖZET

İlaçların, kullanan kişiler için yararlı etkileri olduğu düşünülmektedir ancak bazen ilaç kullanımı kullanıcıya yan etkiler gösterebilmektedir. Bazı hastalarda aynı ilaç için beklenen sağaltım etkisi gözlenirken, bazı hastalarda ise yaşamı tehlikeye atacak kadar yan etki tespit edilmiştir. İlaç kullanımına bağlı olarak bireyler arasındaki bu etki değişkenliğinin etiolojisi çok sebeplidir. Diyet, çevre, fizyolojik etkiler, cinsiyet, yaş ve sağlık durumu olası etkenler arasında yer almaktadır. Fakat bireyler arasında var olan genetik farklılıklar, ilaç alımı sonucunda oluşan etkiler, ilacın aktivitesi üzerine en büyük etkiye sahiptir. Bireylerin kullanımı sonucu ilaç tepkisinin değişkenliği bireydeki hedef genlerin ve metabolizma enzimlerinin genetik olarak belirlenen karakteristik özelliklerinin bir parçasıdır. Farmakogenetik bilim dalının amacı ise kişiye özgü genetik faktörlerin ilaç etkisi ve etkileşimi arasındaki bağlantısını araştırmaktır. Günümüze kadar farmakogenetik alanında elde edilen veriler ışığında “hepsi için uygun” (one size fits all) görüşünün yetersizliği gösterilmiştir. Her bireyin kendine özgü genetik kökeninden dolayı kanser sağaltımına yanıtların yorumlanmasında farmakogenomik kullanılır. Geleneksel yöntemlerle kanser sağaltımı vücuttaki hızla bölünen hücreleri hedef alır ancak vücuttaki tek bölünen hücreler kanser hücreleri değildir. Bu nedenle kişide

### ABSTRACT

Drugs are assumed to make drug users better, but sometimes they can harm with their side effects. For the same drug, some patients show expected therapeutic effect while the others exhibit life-threatening drug side effects. In this inter individual variability, the etiology is multifactorial. Diet, environment, physiological influences, gender, age, and health status are possible factors. But variation in the genetic differences between individuals will have a major impact on drug activity. Variable drug response could be in part to genetically determined characteristics of target genes or drug metabolizing enzymes. Pharmacogenetics looks for these genetic factors which are linked to drug effects. With our increasing know ledges in the pharmacogenomic area we can say that “one size fits all” view is not correct. In cancer treatment, each individual’s unique genetic origin of cancers because of pharmacogenomics in predicting responses to treatment is used. Traditional cancer treatment has targeted dividing cells in the body. But cancer cells are not the only dividing cells in the body, for these reason cancer therapies are liable to have many side-effects. Especially for many cancer types, approved multiple drug strategies are used. The more drug response rate from using combination therapy means as the more expense and adverse reactions. Pharmacogenetic tests

<sup>1</sup> Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Ana Bilim Dalı, İZMİR

İletişim / Corresponding Author : Yasemin BASKIN

Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Ana Bilim Dalı, İZMİR

Tel : +90 232 412 58 90

E-posta / E-mail : yasemin.baskin@deu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 11.01.2011

Kabul Tarihi / Accepted : 10.03.2011

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2011.77598

Baskın Y, Çalıbaşı G. Kanser hastalarında farmakogenetik uygulamaları ve farmakoekonomi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2011; 68 (3): 152-64.

kanser sağaltımları birçok yan etki göstermeye yatkındır. Özellikle birçok kanser tipinde hastaya çoklu ilaç stratejileri öngörülmektedir. Çoklu ilaç sağaltımlarının kullanımlarında daha fazla ilaç tepkisi, daha fazla maliyet ve daha fazla yan etki gözlemlenmektedir. Hastalar için kullanılacak olan farmakogenetik testler Amerikan Klinik Onkoloji Derneği (American Society of Clinical Oncology - ASCO), Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı (National Comprehensive Cancer Network - NCCN) ve Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (United States Food and Drug Administration - US FDA) gibi önemli kuruluşlar tarafından da onaylanarak önerilmektedir.

Sağlık alanında teknolojik gelişmenin sonucu sağlık harcamaları artmış, bunun yanı sıra, sağlığa ayrılan bütçenin gittikçe sınırlandığı bir dönem başlamıştır. Sağlık politikalarına yön veren kamu yöneticileri için bu kısıtlı kaynağın kanıta dayalı ve kamu yararına kullanılması zorunluluğu doğmaktadır. Yeni sağaltım seçenekleri için etkinlik değerlendirilmesinde yol gösteren en önemli gelişme farmakogenetik testler olmaktadır. Bu testler ile hastaya uygun olan ilaç ve doz tercihi yapılarak hastaya etkisi olmayan ilaçlara harcanan bütçede ve oluşacak yan etkilerin sağaltımı için harcanan bütçede önemli küçülmeler sağlanmaktadır. Bu gelişmeler farmakoekonomi kapsamında tartışılmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Kanser, farmakogenetik, farmakoekonomi.

whose primer advantage for patients are approved and suggested to clinicians by significant organizations such as American Society of Clinical Oncology National Comprehensive Cancer Network and United States Food and Drug Administration.

Health expenditures increased as a result of technological development in the field of health, as well as, increasingly constrained budgets allocated to health has started a period. Deciding the policies of this limited resource for public health managers to use evidence-based and public interest obligation arises. For the activity that led to the evaluation of new treatment options are the most important development in pharmacogenomics tests. These tests were done with the patient the appropriate medication and dosage to the patient profile, with no impact on the budget spent on drugs for the treatment of side effects will occur and the significant downsizing is provided in the budget spent. These developments are discussed within the scope of pharmacoeconomics.

**Key Words:** Cancer, pharmacogenetic, pharmacoeconomy.

## GİRİŞ

Günümüzde, İngiliz Ulusal Sağlık ve Klinik Uygulama Enstitüsü (National Institute for Health and Clinical Excellence, NICE) gibi birçok ulusal sağlık enstitüsü; klinik süreçlerde genomik teknolojilerin ve genetik testlerin kullanımını önermeye başlamışlardır. Günümüze kadar olan süreçte, bin iki yüzden fazla değişik hastalık için, klinik kullanımı uygun, binden fazla genetik test geliştirilmiştir. Bunların birçoğu nadir görülen genetik bozuklukların tanısı

için kullanılmaktadır. Kalıtsal genetik değişiklikleri taşıyanların popülasyona dayalı uygulamalarda tespit edilmesi, sık karşılaşılan hastalıklar için kalıtsal risklerin belirlenmesinde ve ilaç yanıtının öngörülmesinde, farmakogenetik prediktif testlerin sayısı her geçen gün hızla artmaktadır. Bu anlamda kontrol ve korunma amaçlı genomik teknoloji uygulamaları, halk sağlığı açısından da oldukça önem kazanmaktadır (1).

Kişiyeye uygulanan sağaltımlarda gözlenen farklı sonuçlar, hasta ölümüne sebep olan ilaç yan etkileri ve artan sağlık harcamalarının, bireysel farklılıklarla şekillenen terapötiklere verilen yanıtlarla ilişkili olduğunu göstermektedir (2).

Yaklaşık 50 yıldır hekimler tarafından hastalara uygulanan sağaltımlara, hastaların verdikleri yanıtların farklılığı gözlenmektedir (2). Bu farklılık bu zamana kadar hastaların ırksal tiplerine bağlı olarak yorumlanmıştır (3).

Popülasyondaki ırkların genetik farklılıklarına göre yapılan tıbbi sağaltım seçimi, ilaç yanıtlarındaki bu farklılığa çözüm getirmemiştir. Çözüm bulma arayışları genetik, çevresel ve immün sistemin genetik varyasyon üzerindeki etkilerinin anlaşılmasını ve değerlendirilmesini sağlamıştır. Bu varyasyon üzerinde genetik faktörlerin %20-95 oranında etkin olduğu tespit edilmiştir (3).

İnsanlar arasındaki sağaltım farklılıklarına sebep olan bu genetik varyantların tespiti ile kişiselleştirilmiş ilaç sağaltımını mümkün kılacak ve hekimlerin klinik uygulamalardaki teşhis ve tespitlerini kolaylaştıracaktır (4).

Kişilerin kullandıkları ilaca verdikleri yanıtta görülen çeşitliliğin genetik temellerini ortaya koymaya yönelik genom dizinleme ve bu genetik testlerin sonucu elde edilen verilerin yorumlanmasında kullanılan biyoinformatik teknolojilerindeki gelişmelerin ilaç uygulamaları ile ilişkilendirilmesi sonucunda farmakogenetik bilim alanını ortaya çıkarmıştır. Kişinin ilaç kullanımı sonucunda verdiği yanıt birden fazla gen ve gen ürününün rol aldığı tespitinin yapılan çalışmalarla ortaya çıkması ile araştırmaların gen düzeyinden genom düzeyine kaymasına, bunun sonucu olarak da farmakogenetik yerine farmakogenomik teriminin kullanılmaya başlanmasına yol açmıştır (5).

İlacın metabolizması, farmakodinamik (PD) ve farmakokinetik (PK) süreçlerini içerir ve her bir işleme birden fazla gen ve protein dahil olmaktadır. Farmakodinamik süreç, ilacın etkisini yerine

getirmesinde görevli olan proteinleri ve hücre içinde ilaçla etkileşen proteinleri kapsar. Farmakokinetik süreç ise ilacın metabolizma ve vücuttan atılma sürecinde rol olan tüm enzim ve proteinleri kapsar. Metabolizmanın doğası gereği ilk faz, oksidatif süreçleri; ikinci faz, konjugatif süreçleri içerir (Tablo 1). İlacın farmakodinamik ve farmakokinetik süreçleri göz önünde alındığında farmakogenetik yerine, daha kapsamlı olan farmakogenomik teriminin kullanılması önerilmektedir (6).

**Tablo 1.** Metabolizma Faz I ve Faz II enzimleri

Faz I Enzimleri	Faz II Enzimleri
Sitokrom P450 ailesi	N- asetil transferaz (NAT)
Monoamin oksidaz	Tiyopürin metil transferaz (TPMT)
Alkol dehidrogenaz	UDP glukuronozil transferaz (UGT)
Aldehit dehidrogenaz	
Dopamin B- hidroksilaz	

“Hepsi için uygun” (One size fits all) yaklaşımıyla bireyler arasındaki genetik farklılıkları gözlemeksizin kullanılan ilaç dozu, kullanıcının karşısına farklı sorunlar çıkarmaktadır. Kullanılan ilaç dozu, sağaltımdan etkin bir yanıt almak için yetersiz kalabilmekte veya ilacın biyotransformasyon yolağındaki değişiklikler sonucu ilaç birikimi ya da toksik metabolitlerin oluşumu ile kişinin ölümüne neden olabilecek ciddi yan etkiler oluşturabilmektedir (7).

Bu nedenle farmakogenetik ve farmakogenomik çalışmalarının (PGx) amacı kişinin bireysel genotipine dayanan sağaltım uygulamalarını (örneğin; hedefe yönelik bireysel sağaltımlar) devreye sokmaktır. Günümüzde PGx, sağaltıma yön vermek amacıyla onkolojik, psikiyatrik, nörolojik ve kardiyovasküler hastalıklar gibi kalıtsal ve sonradan oluşabilen genetik değişikliklerin hastalığın gelişim sürecinde rol aldığı alanlarında kullanılmaktadır (4,7).

**Tablo 2.** Farmokogenetik ve uygulama alanları

Farmakogenetik Testlerin Kullanım Alanları	Örnek
Hastalık riskinin belirlenmesinde	Meme kanseri riskinin değerlendirilmesinde “breast cancer 1 geni, (BRCA1)” mutasyon testi vb.
Sağaltımda kullanılacak ajanların seçiminde	Metastatik koleraktal kanserlerde v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (KRAS) mutasyon testi vb.
İlaç doz uygulamalarında	“İrinotecan” için UDP glukuronil transferaz geni (UGT1A1) testi, “6-mercaptopurine” ve “azatiyopirin” için tiyopürin 5-metiltransferaz (TPMT) mutasyon testleri

Onkoloji ve hematoloji alanında farmakogenetikler, hastalık riskinin belirlenmesinde, sağaltımda kullanılacak ajanların seçiminde ve ilaç doz uygulamalarında kullanılmaktadır (Tablo 2). Hem tümör hücrelerine hem de normal hücrelere birlikte etki eden ve yaşamı tehdit edebilecek toksisite potansiyeline sahip kemoterapötik ajanların kullanımındaki bu tartışılmaz yeri oldukça önemlidir (2).

### KLİNİK ONKOLOJİ UYGULAMALARI

Onkoloji alanında sıklıkla kullanılan ilaçlar Tablo 3’de özetlenmiştir. Bu nedenle sağaltıma ilişkin cevabın veya olası toksisitenin öngörülebilmesine ışık tutan moleküler yapıların tanımlanması oldukça önem kazanmıştır (Tablo 3).

#### A. 5-Fluorourasil (5-Fluorouracil; 5-FU)

Gastrointestinal sistem, meme, baş ve boyun kanserlerinin sağaltımında kullanılan 5-Fluorourasil (5-FU) (Acrucil, Carac, Efudex ve Fluoroplex) metabolizmasının birçok gen ile ilişkili olmasından dolayı karmaşık bir mekanizmaya sahiptir. 5-FU sağaltımı için öngörülen temel belirteçleri dihidropirimidin dehidrogenaz (DPYD) geninden eksprese olan dihidropirimidin dehidrogenaz (DPD) enzimi, 5-FU toksisitesinin artmasıyla ilişkilendirilmektedir. DPYD geninde görülen bir nokta mutasyonu (G→A) sonucunda sentezlenen hatalı bir mesajcı ribonükleik asit (mRNA), hatalı bir proteinin kodlanmasına neden olmaktadır.

Mutant DPD proteininin hızlıca yıkılması sonucu oluşan düşük enzim aktivitesi, aktif 5-FU’nun zehirsizleştirilip inaktif dihidro-5-FU’ya dönüşmemesine (Şekil 1) ve ölümcül hematolojik, gastrointestinal veya nörolojik toksisitelerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Hastayı bu şekilde istenmeyen durumlardan korumak amacıyla Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (US FDA) 5-FU içeren sağaltım planlanmasından önce DPYD farmakogenetik testinin yapılmasını önermektedir (8-10).



Şekil 1. 5-FU detoksifikasyon mekanizması

#### B. Kapesitabin (Capecitabine; 5-FU ORAL ANALOĞU)

Kapesitabin (Xeloda, Roche) 5-FU oral analogu olan floropirimidin tabanlı bir ilaçtır. Urasil ve timin içeren kapesitabin, pirimidin katabolizmasında rol oynayan DPD eksikliği sonucunda oluşan yoğun toksisite belirtileri ile ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle DPD eksikliğinin tespit edilebilmesi açısından DPYD geni mutasyonlarının incelenmesi FDA tarafından önerilmektedir. Ayrıca kapesitabin metabolizması açısından önemi olan diğer bir enzim ise sitidin deaminaz’dır (CDA).

**Tablo 3.** Kimyasal sağaltım ile ilişkili ilaca verilen tepki veya toksisiteyi öngörmek amacıyla kullanılan moleküler yapılar

İLAÇ	BİYOBELİRTEÇ	ROLÜ	SONUÇLA İLİŞKİSİ
5-Flourourasil	DPD	5-FU metabolizmasındaki hız sınırlandırıcı basamağı katalizler.	DPD enzimidaki defekt ölümcül toksisitelere sebep olabilir.
Kapesitabin (5-FU oral analogu)	TS	5-FU metabolizmasında dUMP'nin metillenecek dTMP'e dönüşümünü katalizler.	Enzimin ekspresyon düzeyleri tümörün 5-FU hassasiyeti ile ilişkilendirilmektedir
	TP	5-FU metabolizmasındaki ilk enzimdir.	Enzimin ekspresyon düzeyi kanser hücrelerinin, ilaca hassasiyetiyle ilişkilendirilmektedir.
	DPD	Pirimidin katabolizmasında rol oynar.	Enzimin eksikliği ciddi toksisite durumlarıyla ilişkilendirilmektedir.
İrinotekan	UGT1A1	İrinotekan'nın aktif metaboliti SN-38'i inaktif SN-38G'e dönüştürür.	Homozigot UGT1A1*28 genotipi metabolit inaktivasyonunu azaltıp ciddi nötropeninin oluşmasına sebep olabilir.
Okzaliptatin	ERCC1	Platin ajanların indüklediği DNA çapraz bağlarının tamirinden sorumludur.	ERCC'in yüksek düzeyleri DNA tamirinin artmasıyla beraber okzaliptatinin sitotoksik etki göstermesine neden olur.
	XPD	DNA çapraz bağlarının tamirinde helikazın ekspresyonundan sorumludur.	DNA onarım kapasitesindeki değişikliklere sebep olabilir.
	GSTP	Okzaliptatinin detoksifikasyonundan sorumludur.	Oxaliptatin detoksifikasyonundaki sorunlar ciddi nörotoksikite ve nöropati ile ilişkilidir.
6-merkaptopürin Azatiyopirin	TPMT	6-Merkaptopürin ve azatiyopirin yıkımından sorumludur.	TPMT bozuklukları ciddi hematolojik malinitelere sebep olabilir.
Tamoksifen	CYP2D6	Tamoksifenin aktif metabolitlere dönüşümünden sorumludur.	Tamoksifen tedavisinin etkili olmasından sorumludur.
Gefitinib Erlotinib	EGFR	Hücre proliferasyonundan sorumludur.	EGFR mutasyonları ajanların EGFR hassasiyetinin artmasından sorumludur.
Setuksimab Panitumumab	KRAS	Tümör hücre proliferasyonu için önemli EGFR sinyal yolağının önemli bir parçasıdır.	KRAS mutasyonları ilaca dirençten sorumludur.
İmatinib	BCR-ABL	Tümör hücre proliferasyonundan sorumludur.	BCR-ABL füzyon geninde yer alan, ilaç bağlanmasını ve kinaz aktivitesini etkileyen mutasyonlar, imatinibe direnç olarak tanımlanmıştır.
	KIT	Tümör hücre proliferasyonundan sorumlu tirozin kinazdır.	KIT geni ekzon 9,11,13 ve 17 mutasyonları imatinib sağaltımına verilecek cevabın öngörülmesinde etkilidir.

→

Tablo 3. (devam)

İLAÇ	BİYOBELİRTEÇ	ROLÜ	SONUÇLA İLİŞKİSİ
Sunitinib	KIT	Tümör hücre proliferasyonundan sorumlu tirozin kinazdır.	KIT geni mutasyonları sunitinib sağaltımına verilecek cevabın öngörülmesinde etkilidir.
Dasatinib	BCR-ABL	Tümör hücre proliferasyonundan sorumludur.	BCR-ABL genindeki mutasyonlar ilaç bağlanmasını etkileyerek ilaca direnç gelişimini sağlar.
Trastuzumab	HER2/NEU	Hücre büyümesi ve proliferasyonunda etkili hücre yüzey proteindir.	HER2/NEU amplifikasyonu etkin trastuzumab sağaltımı ile ilişkilidir.
Rasburikaz	G6DP	İlaç metabolizmasında yer almaktadır.	G6DP enzim defekti olan hastalara uygulandığında ciddi hemoliz durumları söz konusu olabilir.
6-Tiyoguanin	TPMT	6-TG'yi inaktive ederek 6-tiyoguanin nükleotidlerini (TGN) oluşturmaktadır.	TPMT homozigot mutant allelleri, yüksek TGN düzeylerine sebep olacağından ciddi kemik toksisitesine yol açmaktadır.
Busulfan	Philadelphia kromozomu	Hücre siklus proteinleri aktiflenerek sürekli çoğalma sağlar.	Busulfan Philadelphia kromozomu bulunmayan CML hastalarında etkisizdir.

Bu enzim, kapesitabin'in 5-FU'a dönüşüm işlevinde yer almaktadır. CDA, genetik polimorfizmlerin oluşması sonucunda, yapısında değişiklikler meydana gelebilen bozuk ve aşırı aktif bir profile sahip olabilir. Aşırı aktiviteye sahip profil, artan 5-FU toksisitesi ile ilişkilendirilmektedir (11).

Pirimidin metabolizmasında yer alan timidin fosforilaz (TP) ve timidilat sentaz (TS) enzimlerinin ekspresyonları da floropirimidin tabanlı ilaçların kullanılmasında önemlidir. Timidilat sentaz, deoksiüridin monofosfatın (dUMP) metillenerek deoksitimidin monofosfata (dTMP) dönüşümünü katalizler. 5-FU metabolizmasında yer alan bu basmakta, enzimin ekspresyon düzeyleri tümörün 5-FU hassasiyeti ile ilişkilendirilmektedir (12).

Timidin fosforilaz, 5-FU metabolizmasında oluşan ilk enzimdir. Bu nedenle, enzimin ekspresyon düzeyi kanser hücrelerinin, anti-pirimidin ajanına karşı hassasiyetiyle ilişkilendirilmektedir.

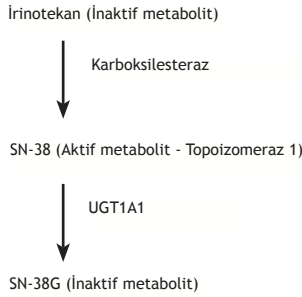
Nükleotid ve floroprimidin metabolizmasındaki rollerinden dolayı ekspresyon ve aktivite düzeyleri açısından TP, TS, DPD önemli biyobelirteçlerdir (13).

### C. Irinotekan (Irinotecan)

Irinotekan (Camptosar®, Pfizer) ilişkili farmakogenetik uygulamaları, UGT1A1 polimorfizmleri üzerine odaklanmıştır. Irinotekan sağaltımı alan hastalarda, genin promotor bölgesindeki ikili nükleotid tekrarları, toksisite oluşumu ile ilişkilendirilmektedir. Topoizomeraz-I inhibitörü olan irinotekan, karboksilesterazlar ile kendinden daha kuvvetli bir inhibitör olan SN-38'e dönüşmektedir. SN-38 metaboliti de UGT1A1 enziminin yer aldığı glukuronidasyon işlemi ile inaktif SN-38G'ye dönüşmektedir (Şekil 2). Yabancıl tip (Wild-type, WT) UGT1A1 geni, altı adet ikili nükleotid tekrarı (TA6), varyant gen ise yedi adet ikili nükleotid tekrarı (TA7) içermektedir. In vitro deney ortamında gerçekleştirilen çalışmaların verileri değerlendirildiğinde, yedi adet ikili nükleotid



tekrarı içeren homozigot varyantlarda (TA7/7) SN-38 glukuronidasyonunun azalması; in vivo deneylerde de nötropeni ve uzun süreli diyare gibi toksik etkilerin arttığı gösterilmiştir (14, 15). Bu bağlamda, US FDA, irinotekan ile sağaltım planlanmasında UGT1A1 farmakogenetik testi ile olası toksisite riskinin belirlenmesini önermektedir (10, 16).



Şekil 2. İrinotekan metabolizması

#### D. Oksaliplatin (Oxaliplatin; OX)

Oksaliplatin (Eloxatin®, Sanofi-Aventis) kolorektal kanserlerde 5-FU ve lökovorin (LV) (Wellcovorin®, GlaxoSmithkline) ile birlikte yapılan çoklu sağaltımlarda kullanılmaktadır. OX, tamamlayıcı DNA çift iplikleri arasında çapraz bağlar oluşturarak sitotoksik etki göstermektedir. Bu etki hücrenin programlı ölümüne (apoptozis) neden olmaktadır. Nükleotid eksizyon tamir mekanizmaları ile çapraz bağların kaldırılması OX direnci ile sonuçlanmaktadır. Nükleotid eksizyon tamirinde hız sınırlayıcı basamaktan sorumlu olan kemirgende tamamlama grubu 1, eksizyon onarımında çapraz-tamamlayıcı onarım eksikliği geninin (excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 1 (ERCC1) olağandan fazla ekspresyonu, DNA tamirinin artmasından sorumlu olarak OX'a karşı direnç oluşturmaktadır. ERCC1 geni dışında kseroderma pigmentozum grup-d geni' de (XPD) bu yolağın çalışması için gerekli olan helikaz'ın kodlanmasından sorumludur.

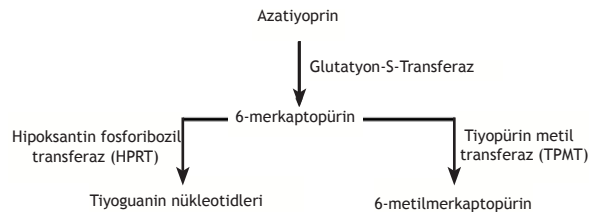
Glutasyon-S-transferaz enzimleri (GST) ise OX'un detoksifikasyon yolağında yer almaktadır.

OX detoksifikasyonunun yapılamadığı durumlarda ilk olarak akut nörotoksisite ve nöropati ortaya çıkmaktadır. GSTP1-105G allelindeki oluşacak bir mutasyon sonucunda, 5-FU/LV/OX (FOLFOX-4) birleşimini alan hastalarda artmış nörotoksisite ile ilişkilendirilmiştir (17).

Metastatik kolorektal kanseri hastalarında 5-FU ve LV ile birlikte OX (FOLFOX) veya irinotekan (FOLFIRI) birleşimlerinin birinci sıra sağaltım olarak planlanması sırasında ERCC1, XPD ve GST farmakogenetik testleri onkologlara yardımcı olmaktadır.

#### E. 6-merkaptopürin (6-mercaptopurine (6-MP)-Azathioprine (AZA))

6-MP (Purinethol®, GlaxoSmithkline) çocuklarda en çok karşılaşılan kanserlerden biri olan akut lenfositik lösemi sağaltımında yaygın olarak kullanılmaktadır. 6-MP'nin farmakogenetik olarak değerlendirilmesi düşük tiyopürin metiltransferaz (TPMT) aktivitesinin % 95'inden sorumlu olan üç varyantın (TPMT\*2, TPMT\*3A, TPMT\*3C) üzerine odaklanmıştır. 6-MP ve AZA (örneğin; Imuran® GlaxoSmithkline, Azasan® Salix), aktif tiyoguanin nükleotidlerine (TGN) dönüşebilen öncül ilaçlardır (Şekil 3) ve etki mekanizmaları pürin yerine geçerek DNA sentezini durdurmalarıdır. Otozomal resesif kalıtılan TPMT bozuklukları, 6-MP ve AZA sağaltımı gören hastalarda ciddi hematolojik toksisitelere sebep olduğundan hastaya verilecek olan 6-MP dozunun azaltılması gerekmektedir. Böyle bir durumda homozigot varyant (TPMT3\*3A/TPMT\*3A) TPMT taşıyan hastaya, normal 6-MP dozunun %10'unun altındaki doz yeterli olabilmektedir.



Şekil 3. 6-MP ve AZA metabolizması

Bu nedenle USFDA tarafından 6-MP ve AZA sağaltımı başlatılacak olgulara ilgili farmakogenetik testlerin yapılması önerilmiştir (7, 18-20).

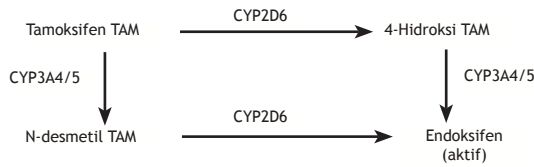
#### F. Tamoksifen (Tamoxifen; TAM)

Seçici östrojen reseptörü antagonisti olan tamoksifen (Nolvadex®, AstraZeneca) östrojen reseptörü pozitif meme kanseri sağaltımında ve önlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (21).

Günümüze kadar klinik açıdan öngörülse belirteçler (örneğin; diğer östrojen ve progesteron belirteçlerinin varlığı gibi) hastanın TAM sağaltımından göreceği yararı belirleyebilmektedir.

Bunlara ek olarak oldukça karmaşık olan TAM metabolizmasında, faz I ve II reaksiyonlarında yer alan enzim polimorfizmleri sağaltım sonucuyla ilişkilendirilmektedir. TAM, faz I reaksiyonları sonucu aktif metabolitleri olan 4-hidroksitamoksifen ve endoksifene dönüşür (Şekil 4). TAM'a oranla östrojen reseptörüne 100 kat daha özgü olan bu metabolitler, östrojen bağımlı hücre çoğalmasını durdurmakta ve 30-100 kat daha etkili olmaktadır. Bu dönüşümünden sitokrom P4502D6 (CYP2D6) enzimi sorumlu olduğu için TAM aktivitesi için belirleyici olmaktadır (22, 23).

TAM'ın aktif metabolitlere dönüşümü sağaltım açısından önemli olması nedeniyle USFDA tarafından TAM sağaltımı başlatılacak olan olgulara CYP2D6 genotipleme testi önerilmektedir (10).



Şekil 4. Tamoksifen metabolizması

#### G. Gefitinib ve Erlotinib

Gefitinib (Iressa®, AstraZeneca) ve Erlotinib (Tarceva®, Roche, Genentech), epidermal büyüme faktör reseptörünün (EGFR) tirozin kinaz alt grubunu inhibe eden tirozin kinaz inhibitörleridir. Bu ajanların

kullanımı, geleneksel kemoterapi sağaltımından yanıt alamamış veya ileri evre küçük hücreli dışı akciğer kanseri olgularının sağaltımı için 2003 (Gefitinib) ve 2004 (Iressa) yıllarında onaylanmıştır. Gefitinib sağaltımından yanıt alan ve almayan kişiler arasındaki moleküler farklılıklar araştırıldığında, sağaltıma yanıt veren hastaların EGFR geninde somatik mutasyonlar belirlenmiştir. Buna karşıt olarak gefitinibe yanıt vermeyen hastalarda ise EGFR geninde mutasyonlara rastlanmamıştır. Bu mutasyonlar büyüme faktörü sinyal iletiminin ve EGFR hassasiyetinin artmasının sorumlusu olarak görülmüştür. Akciğer kanseri tümör dokusunda tanımlanan G719S ve L858R nokta mutasyonları ile nükleotid delesyonları daha çok adenokanserlerin bronşioalveolar alt grubunda, kadınlarda ve Japon'larda tanımlanmıştır ve sağaltıma yanıtla ilişkilendirilmiştir. Bu nedenlerle USFDA, gefitinib ve erlotinib sağaltımı planlanmasında EGFR-TK farmakogenetik testi yapılmasını önermektedir (10, 24-26).

#### H. Setuksimab (Cetuximab) ve Panitumumab

Setuksimab (Erbix®, Merck KgaA) ve panitumumab (Vectibix®, Amgen Thousand Oaks) EGFR inhibitörü olarak tasarlanan monoklonal antikorlardır ve EGFR' a bağlanarak reseptöre özgü ligandların bağlanmasını engellemektedir (27,28). Böylece reseptör tirozin kinaz aktivitesi ve bununla bağlantılı alt yolların aktivasyonu inhibe edilmektedir (29,30).

EGFR yolağında yer alan KRAS proto-onkogenine fonksiyon kazandıran mutasyonlar; tümör hücre çoğalması, apoptoza karşı direnç, invazyon, metastaz ve anjiyogenez gibi hücre içi sinyal yollarının EGFR'ünden bağımsız olarak çalışmasını sağlar (31). KRAS geni, kodon-12 ve 13'de yer alan bu mutasyonlar kolorektal kanserlerde yaklaşık %40 (%20-50) oranında saptanmaktadır ve hedefe yönelik anti-EGFR sağaltımlarının başarısız olmasına neden olmaktadır (32-34).

KRAS mutasyonları ile hedefe yönelik antikor sağaltımları arasındaki ilişkinin belirlenmesinin

ardından Amerikan Klinik Onkoloji Derneği (American Society of Clinical Oncology- ASCO) ve USFDA tarafından sağaltımdan yararlanacak hastaların moleküler bir testle belirlenmesi önerilmiştir (35-37).

### I. Imatinib

Imatinib (Gleevec/Glivec; Novartis), kronik miyeloid lösemilerde BCR-ABL onkogenini inhibe etmeyi hedefleyen ilk tirozin kinaz inhibitörüdür. İmatinib aynı zamanda gastrointestinal stromal tümörlerde de (GIST) KIT ve platelet kökenli büyüme faktörü (PDGFR) gibi diğer sinyal yollarındaki proteinlerin tirozin kinaz alt birimlerinin inhibisyonunu da hedefleyen bir ajandır. Ancak imatinibin etki etmediği, kemoterapiye dirençli veya daha az etkinin görüldüğü hasta grubunun tanımlanmasıyla imatinibe cevap veren hastanın belirlendiği farmakogenetik testler de gün ışığına çıkmıştır. CML'de, BCR-ABL gen amplifikasyonu ile BCR-ABL füzyon geninde yer alan, ilaç bağlanmasını ve kinaz aktivitesini etkileyen mutasyonlar imatinibe direnç olarak tanımlanmıştır. Özellikle T315I mutasyonlarının ve BCR-ABL P-ilmliğindeki mutasyonların taranması ile dirençli hasta grubu belirlenebilmekte ve direnç sorunu imatinib dozunun artırılması ya da başka tirozin kinaz inhibitörü ajanların kullanılması ile çözümlenmeye çalışılmaktadır (38, 39).

GIST'lerde ise KIT genindeki ekzon 9 ve 11 mutasyonuna sahip hasta grubunun yabancı tip hastaya göre imatinibe daha iyi cevap verdiği belirlenmiştir. Ekzon 13, 14, 17 ve 18 bölgelerinde oluşan ve kinaz aktivasyon ilmiği, ATP bağlanma noktalarını kapsayan KIT proteini yapısını değiştirerek imatinib sensitivitesini düşüren mutasyonlar da ilaç direnç ile ilişkilendirilmiştir. Sıklıkla imatinib direnci ile ilişkilendirilen mutasyonlar V654A, T670I, S709F, D816V, D820Y, N822K, Y823D, 559-560 VV delesyonlarıdır. GIST sağaltımında imatinib direnç sorunu imatinib dozu artırılarak veya tirozin kinaz inhibitörü olan diğer ajanların (örneğin, sunitinib) kullanılmasıyla çözümlenmeye çalışılmaktadır (40).

### J. Sunitinib

Sunitinib (Sutent, Pfizer) KIT, FLT3, PDGFR, ve vasküler endotelial büyüme faktör reseptörü (VEGFR) tirozin kinazlarına karşı geliştirilen yeni ve çok hedefli bir tirozin kinaz inhibitörüdür. GIST'ler için VEGFR ile PDGFR inhibisyonunu sağlayarak anti-anjiyojenik bir etki oluştururken, KIT ve PDGFR inhibisyonu ile antitümör etkisini gösterir. Sunitinib sağaltımı alan hastalarda KIT geni ekzon 9 mutasyonu olanlar ile yabancı tip olanlar, ekzon 11 mutasyonu olanlara göre sunitinibe daha iyi yanıt vermektedir. Sunitinib, KIT aktivasyon ilmiğinde imatinib direnç mutasyonu (ekzon 17'de 815, 820, 822, ve 823 numaralı kodonlar) olan tirozin kinaz yapılarına ve D842V mutasyonu olan PDGFRA tirozin kinaz yapılarına karşı etki gösteremez (41).

### K. Dasatinib

Dasatinib, T315I mutasyonu ile imatinib direnci kazanan CML hastaları dışındaki İmatinib dirençli CML hastalarında Src/ABL inhibitörü olarak kullanılmaktadır. Dasatinib (Sprycel, Bristol-Myers Squibb) dirençli hastaların belirlenmesi için BCR-ABL taraması yapılmaktadır. Yüksek derecede dasatinib direnci ile ilişkilendirilen mutasyonlar T315I, T315A ve F317V'dir. Bunların yanında L248R, E255K, F317L ve V299L mutasyonları da dasatinibe karşı düşük hassasiyete sahiptir. Bu gibi durumlarda direncin geç ortaya çıkması için imatinib-dasatinib kombine sağaltım seçenekleri kullanılmaktadır (42).

### L. Trastuzumab

Kanser yönetiminde hedefe yönelik sağaltımlar yarar görecektir hasta alt grubunun belirlenmesi ile başarılı olabilmektedir. En belirgin örneklerden biri olan trastuzumab (Herceptin, Roche) adayı olan meme kanseri hastalarının belirlenmesidir. Trastuzumab HER2/NEU büyüme faktörü reseptörüne karşı geliştirilen bir monoklonal antikordur. Ancak trastuzumab HER2/NEU geninin amplifiye olduğu hastalarda etkili olmaktadır. Bu nedenle meme kanseri hastalarında HER2/NEU geninin amplifiye

olmasına yönelik yapılacak test sağaltımın başarılı olmasını öngörebilecek niteliktedir (38).

#### M. Rasburikaz (Rasburicase)

Rasburikaz (Elitek, Sanofi-Synthelabo), tümör lizis sendromunun tedavi edilmesi veya önlenmesinde USFDA tarafından kullanımı onaylanan rekombinant urat oksidaz enzimidir. Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzim bozukluğu olan hastalara uygulandığında ciddi hemoliz durumu oluşabildiği için G6PD defekti olan hasta grubuna verilmesinin uygun olmadığı belirtilmiştir (43, 44).

#### N. 6-Tiyoguanin (6-Thioguanine; 6-TG)

6-TG (Thioguanine Tabloid, GlaxoSmithKline) akut lenfoblastik ve akut miyeloblastik lösemilerin tedavisinde kullanılan öncül ilaçlardan biridir. Tiyopürin-S-metiltransferaz (TPMT), S-metilasyon işlemi ile 6-TG'yi inaktive ederek 6-tiyoguanin nükleotidleri (TGN) oluşturmaktadır. TPMT homozigot mutant allelleri yüksek TGN düzeylerine sebep olacağından ciddi kemik toksitesine yol açmaktadır (12).

#### O. Busulfan

Busulfan (Myleran, GlaxoSmithKline, Busulfex IV, PDL BioPharma, Inc.) CML tedavisinde kullanılan alkilleyici neoplastik ajandır. Busulfan Philadelphia (Ph 1) kromozomu bulunmayan kronik miyeloid lösemilerde etkisizdir. Klinik kullanımı imatinib sağaltımının yaygın kullanımı sonrasında azalmıştır (45, 46).

### FARMAKOEKONOMİ

“Hepsi için uygun” (One size fits all) ya da “deneme-yanılma” (“trial and error”) yaklaşımıyla uygun olmayan sağaltım seçimleri sonucu sağaltımdan yarar sağlanamaması veya sağaltım ilişkili toksisite durumlarının ortaya çıkması, günümüz tıbbını kişiselleştirilmiş tıba yönlendirmektedir (47).

Kişiselleştirilmiş tıpta, kişiye özgü tanımlamaları (ilaç metabolizma enzimleri ya da biyobelirteç

polimorfizmleri) yapabilmek için gerekli olan genetik testler USFDA, ASCO ve Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı (National Comprehensive Cancer Network - NCCN) tarafından onaylanmaktadır. Amerika ve Avrupa ile birlikte ve Türkiye’de de kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımı içerisinde hastaya birtakım ilaçların uygulanması için hastalık tanısına ve ilaca özgü farmakogenetik testlerin yapılması zorunluluğu bulunmaktadır. Türkiye’de Sosyal Güvenlik Kurumu (SGK) setuksimab gibi bazı ilaçların hastaya uygulanması için bunlara özgü farmakogenetik testlerin yapılmasını gerekli görmektedir. Bu yüzden hekimler farmakogenetik testler ve klinik uygulamalar arasındaki uyumun önemini bilerek davranmaktadır (7, 10).

PGx alanlarındaki çalışmaların artması ile hastaya daha etkili sağaltım seçeneklerinin sunulduğu kişiselleştirilmiş tıp, sağlık ekonomisi açısından birtakım değişikliklere sebep olmaktadır (5). İlk olarak ilaç firmalarının “hepsi için uygun” kavramına sahip çıktığı “sürümü “en yüksek ilaca yönelen” (blockbuster) olarak adlandırılan ve herkesçe bilinen ilaçların kullanımının azalması olasılığını ortaya çıkmaktadır. İlaç sanayisinin “blockbuster” modeller konusunda yeniden düşünmesi gerekirken, bu kavram değişikliği piyasaya uyum sağlamış iş stratejileri için yeni etkinlik modellerine ihtiyaç duyulmasını sağlamaktadır (48). Diğer taraftan prediktif biyobelirteçlerin kullanılabilirliği ile hasta popülasyonunda yapılan sınıflandırmalar klinik araştırmaların daha küçük popülasyonlarla yapılabilme kolaylığını sunmaktadır (49). Olası yan etkileri olabilecek hasta alt gruplarının toksisite biyobelirteçleriyle belirlenmesi sonucu klinik araştırmaların sayısı ve süresi azalmakta ve bu azalış araştırmalar için harcanan bütçelerin daha verimli kullanılmasını sağlamaktadır (48). Ayrıca hastaya ve tanıya uygun ilaçların kullanımı için toksisite biyobelirteçlerinin kullanımı yan etkilerin azaltılmasını sağlamakta ve ilaç şirketlerine açığa çıkan yan etkiler için açılan davaların ve bunun sonucu olarak da ilaç şirketleri tarafından kaybedilen davalar ile ilaçların pazardan çekilmesi riskini de azaltmaktadır (50).

Farmakogenetik çalışmaların hızla artması sonucu kişiselleştirilmiş tıpta tanımlayıcı olabilecek yeni moleküllerin ortaya çıkması daha etkili ve yeni sağaltım seçeneklerine zemin hazırlamaktadır. Bu da ilaç keşfinde biyobelirteçlerle birleşimin önemini vurgulamaktadır (47, 51, 52).

Farmakogenetik testler ve kişiselleştirilmiş tıp hastaların yarar görebileceği ve en az yan etki ile sağaltımlarını tamamlamaları yönünde çalışmaktadır. Çünkü farmakogenetik testlerle hastanın yarar göreceği sağaltım çeşidi belirlenirken gereksiz yan etkilerden ve toksisiteden hasta uzak tutulmaktadır. Bu yol, hem sağaltımın etkinliğini arttırmakta hem de

sağlık masrafları için harcanan bütçenin azalmasına sebep olmaktadır (36, 37).

Daha fazla örneğin aynı anda analizini sağlayan “omik” teknolojilerinin gelişmesi ve ucuzlaması yanında, yöntemlerin ve uygulamaların validasyon süreçlerinin tamamlanması bu alanın gelişmesi için önemli basamaklar olacaktır (6, 48, 53, 54).

Sonuç olarak, hastaların genomundaki farklı moleküler yapıları; ilaç ve doz seçiminde, yan etkilerin önlenmesinde kullandığı yeni sağaltım imkanlarının geliştirilmesinde önemli olacağı yeni bir tıp anlayışının uygulama dönemi başlamıştır.

## KAYNAKLAR

1. House of Lords - Science and Technology Committee. Genomic Medicine. 2nd Report of Session 2008-09 - Volume I: Report. Londra: TSO (The Stationery Office), 2009.
2. Huang RS, Ratain MJ. Pharmacogenetics and Pharmacogenomics of Anticancer Agents. CA Cancer J Clin, 2009; 59(1): 42-55.
3. <http://www.parliament.uk/documents/post/postpn329.pdf> (Erişim tarihi: 20.08.2010)
4. Meyer UA. Pharmacogenetics-5 decades of therapeutic lessons from genetic diversity. Nat Rev Genet, 2004; 5(9): 669-76.
5. Baskın Y. Tıpta teknolojik gelişimin neden olduğu kavram değişimleri: Kişiselleştirilmiş tıp. Türk Hij Den Biyol Derg, 2007; 64 (2): 54-9.
6. Baysal K. Farmakogenomik: Genetiđin kişiselleştirilmiş ilaç tedavisinde kullanılması. İy klinik uygulamalar, 2004; 9: 13-6.
7. Grabinski JL. Pharmacogenomics of Anticancer Agents: Implications for Clinical Pharmacy Practice. J Pharm Prac, 2007; 20 (3): 246-51.
8. Gardiner SJ, Begg EJ, Robinson BA. The effect of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency on outcomes with fluorouracil. Adverse Drug React Toxicol Rev, 2002; 21(1-2): 1-16.
9. Ezzeldin H, Diasio R. Dihydropyrimidine Dehydrogenase Deficiency, a Pharmacogenetic Syndrome Associated with Potentially Life-Threatening Toxicity Following. 5-Fluorouracil Administration. Clin Colorectal Cancer, 2004; 4(3): 181-9.
10. <http://www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics/ucm083378.htm> (erişim tarihi: 23.09.2010)
11. Mercier C, Dupuis C, Blesius A, Fanciullino R, Yang CG, Padovani L ve ark. Early severe toxicities after capecitabine intake: possible implication of a cytidine deaminase extensive metabolizer profile. Cancer Chemother Pharmacol, 2009; 63: 1177-80.
12. Efferth T, Volm M. Pharmacogenetics for individualized cancer chemotherapy. Pharmacol & Ther, 2005; 107: 155-76.

13. Soong R, Shah N, Salto-Tellez M, Tai BC, Soo RA, Han HC ve ark. Prognostic significance of thymidylate synthase, dihydropyrimidine dehydrogenase and thymidine phosphorylase protein expression in colorectal cancer patients treated with or without 5-fluorouracil-based chemotherapy. *Ann Oncol*, 2008; 19: 915-9.
14. Kweekel D, Guchelaar HJ, Gelderblom H. Clinical and pharmacogenetic factors associated with irinotecan toxicity, *Cancer Treat Rev*, 2008; 34(7): 656-69.
15. Iyer L, Das S, Janisch L, Wen M, Ramirez J, Karrison T, et al. UGT1A1\*28 polymorphism as a determinant of irinotecan disposition and toxicity. *Pharmacogenomics J*, 2002; 2(1): 43-7.
16. Khanna R, Morton CL, Danks MK, Potter PM. Proficient metabolism of irinotecan by a human intestinal carboxylesterase. *Cancer Res*, 2000; 60: 4725-8.
17. Ruzzo A, Graziano F, Loupakis F, Rulli E, Canestrari E, Santini D, et al. Pharmacogenetic profiling in patients with advanced colorectal cancer treated with first-line FOLFOX-4 chemotherapy. *J Clin Oncol*, 2007; 25: 1247-54.
18. Marsh S. Pharmacogenomics. *Ann Oncol*, 2007; 18 (Supplement 9): ix24-28. doi:10.1093/annonc/mdm289.
19. Krynetski EY, Tai HL, Yates CR, Fessing MY, Loennechen T, Schuetz JD, et al. Genetic polymorphism of thiopruine S-methyltransferase: clinical importance and molecular mechanisms. *Pharmacogenetics*, 1996; 6(4): 279-90.
20. [http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2004/09053s024lbl.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2004/09053s024lbl.pdf) (Erişim tarihi: 20.08.2010)
21. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet*, 2005; 365(9472): 1687-717.
22. Goetz MP, Rae JM, Suman VJ, Safgren SL, Ames MM, Visscher DW, et al. Pharmacogenetics of Tamoxifen Biotransformation Is Associated With Clinical Outcomes of Efficacy and Hot Flashes. *J Clin Oncol*, 2005; 23(36): 9312-8.
23. Massarweh S, Osborne CK, Creighton CJ, Qin L, Tsimelzon A, Huang S, et al. Tamoxifen resistance in breast tumors is driven by growth factor receptor signaling with repression of classic estrogen receptor genomic function. *Cancer Res*, 2008; 68(3): 826-33.
24. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating Mutations in the Epidermal Growth Factor Receptor Underlying Responsiveness of Non-Small-Cell Lung Cancer to Gefitinib. *N Engl J Med*, 2004; 350(21): 2129-39.
25. Fukuoka M, Yano S, Giaccone G, Tamura T, Nakagawa K, Douillard JY, et al. Multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer (The IDEAL 1 Trial). *J Clin Oncol*, 2003; 21(12): 2237-46.
26. Paez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR Mutations in Lung Cancer: Correlation with Clinical Response to Gefitinib Therapy. *Science*, 2004; 304(5676):1497-500.
27. Heinemann V, Stintzing S, Kirchner T, Boeck S, Jung A. Clinical relevance of EGFR- and KRAS-status in colorectal cancer patients treated with monoclonal antibodies directed against the EGFR. *Cancer Treat Rev*, 2009; 35(3): 262-71.
28. Van Krieken JH, Jung A, Kirchner T, Carneiro F, Seruca R, Bosman FT, et al. KRAS mutation testing for predicting response to anti-EGFR therapy for colorectal carcinoma: proposal for an European quality assurance program. *Virchows Arch*, 2008; 453(5): 417-31.
29. Baskın Y, Çalıbaşı G, Kayacık N, Sarıoğlu S, Canda E, Yılmaz U. Pharmacogenomics of Anticancer Agents: Using Predictive Biomarkers to Select Patients with Colorectal Cancer for Treatment with Anti-EGFR Therapies. 5th International Conference Of Asian Pacific Organisation For Cancer Prevention. April,3-7, İstanbul-Turkey. 2010.
30. Frattini M, Saletti P, Romagnani E, Martin V, Molinari F, Ghisletta M et al. PTEN loss of expression predicts cetuximab efficacy in metastatic colorectal cancer patients. *Br J Cancer*, 2007; 97(8): 1139-45.
31. Baskin Y. Kolorektal kanserlerde moleküler biyoloji ve klinik sonuçları. Aydın Onkoloji Günleri Klinik Onkolojide Güncel Tedaviler Sempozyumu, Kolorektal Kanser Kurs Programı, Lecture. Nisan, 9-12, Kuşadası-Türkiye.2009.
32. Baskın Y, Çalıbaşı G, Kayacık N, Canda E, Sarıoğlu S, Yılmaz U. Kolorektal kanserlerde KRAS geni mutasyonlarının saptanmasında Mikroarray yönteminin kullanımı. KBUD 6. Ulusal Kongresi. Eylül, 22-25, İzmir-Türkiye.2010.



33. Baskın Y, Çalılıbaşı G, Akman T, Sarıoğlu S, Canda E, Sağol Ö, Ellidokuz H, Öztop İ, Yılmaz U. Kolorektal Karsinomlu Hastalarda Anti-EBFR Tedavisine Yanıtın Öngörülmesinde KRAS Mutasyon Testi: Farmakogenetik Teranostik Bir Belirteç. VII. Ulusal Tıbbi Onkoloji Kongresi. Eylül, 22-26, Antalya-Türkiye. 2010.
34. Baskın Y, Çalılıbaşı G, Canda E, Sarıoğlu S, Yılmaz U. KRAS Mutation Screening In Colorectal Cancer: A Comparison Between ARMS PCR and DNA Sequencing (as a gold standard). 22. Ulusal Biyokimya Kongresi "Hastalıkta ve Sağlıkta Biyomoleküllerin Yeri ve İzlemi". Ekim, 27-30, Eskişehir-Türkiye. 2010.
35. Allegra CJ, Jessup JM, Somerfield MR, Hamilton SR, Hammond EH, Hayes DF, et al. American Society of Clinical Oncology Provisional Clinical Opinion: Testing for KRAS Gene Mutations in Patients With Metastatic Colorectal Carcinoma to Predict Response to Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibody Therapy. *J Clin Oncol*, 2009; 27: 2091-6.
36. [www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2009/125147s080lbl.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/125147s080lbl.pdf) (erişim tarihi: 26.08.2010)
37. Shastry BS. Genetic diversity and new therapeutic concepts. *J Hum Genet*, 2005; 50(7): 321-8.
38. Kurzrock R, Markman M. Targeted cancer therapy. USA: Humana Press, 2008.
39. Terasawa T, Dahabreh I, Trikalinos TA. BCR-ABL mutation testing to predict response to tyrosine kinase inhibitors in patients with chronic myeloid leukemia. *PLoS Curr*, 2010; 7; 2: RRN1204.
40. Matthews DJ, Gerritsen ME. Targeting protein kinases for cancer therapy. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2010.
41. Heinrich M, Corless C, Liegl B, Fletcher CD, Raut C, Donsky R ve ark. Mechanisms of sunitinib malate (SU) resistance in gastrointestinal stromal tumors (GISTs). *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)*, 2007; 25(18): Abstr 10006.
42. Xie HG, Frueh FW. Pharmacogenomics steps through personalised medicine. *Personalized medicine*, 2005; 2(4): 325-37.
43. <http://www.sanofi-aventis.ca/products/en/fasturtec.pdf> [Rasburicase (Fasturtec) Product Monograph.] (Erişim tarihi: 23.02.2011)
44. <http://en.wikipedia.org/wiki/Rasburicase> (Erişim tarihi: 23.02.2011)
45. <http://en.wikipedia.org/wiki/Busulfan> (Erişim tarihi: 23.02.2011)
46. [http://www.druglib.com/druginfo/myleran/description\\_pharmacology/](http://www.druglib.com/druginfo/myleran/description_pharmacology/) (Erişim tarihi: 23.02.2011)
47. Duffy MJ, Crown JA. Personalized Approach to Cancer Treatment: How Biomarkers Can Help. *Clin Chem*, 2008; 54(11): 1770-9.
48. Reiss T. Implications of personalised medicine for the health Economy. *New Biotechnology*, 2009; 25S: 16- 17. doi:10.1016/j.nbt. 2009.06.042.
49. Baskın Y. Meme Kanseri Belirteçlerini Tanımlamada Proteomik Yöntemler. II. Multidisipliner Kanser araştırma Sempozyumu, Uluslar arası katılımlı, Lecture. Şubat, 24-27, Bursa-Türkiye. 2008.
50. Dan M. Roden, MD; Russ B. Altman, MD, PhD; Neal L. Benowitz, MD, et al. Pharmacogenomics: Challenges and Opportunities. *Ann Int Med*, 2006; 145 (10): 749-57.
51. Baskın Y. Kanser Belirteçlerini Tanımlamada Yeni Bir Yaklaşım Olarak Proteomik Yöntemler. Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği 5. Ulusal Kongresi. Ocak, 11-15, Bursa-Türkiye, 2009.
52. Baskın Y, Yığıtbaşı T. Clinical Proteomics of Breast Cancer. *Curr Genomics*, 2010; (11): 528-36.
53. Baskın Y, Çalılıbaşı G, Kayacık N, Sarıoğlu S, Canda E, Yılmaz U. K-RAS Mutation Detection In Colorectal Cancer Using The Real-Time Polymerase Chain Reaction With Melting Curve Analysis. 5th International Conference Of Asian Pacific Organisation For Cancer Prevention. April, 3-7, İstanbul-Turkey, 2010.
54. Baskın Y, Çalılıbaşı G, Kayacık N, Canda E, Sarıoğlu S, Yılmaz U. Optimisation and Validation of KRAS Mutation Testing in Colorectal Carcinomas. III. Multidisipliner Kanser Araştırma Sempozyumu, Teorik Metot Çalıştayı. Mart, 14-17, Bursa-Türkiye, 2010.

TELİF HAKKI DEVRİ / COPYRIGHT RELEASE

REFİK SAYDAM HIFZISSİHHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI / REFİK SAYDAM NATIONAL PUBLIC HEALTH AGENCY

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,

Yayınlanmasını 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.

Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı / Refik Saydam National Public Health Agency

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

Yayın ve Dokümantasyon Müdürlüğü / Department of Publication and Documentation

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

Tel/Phone : +90 312 458 23 64

Faks/Fax : +90 312 458 24 08

e-posta/e-mail : turkhijyen@rshm.gov.tr



