

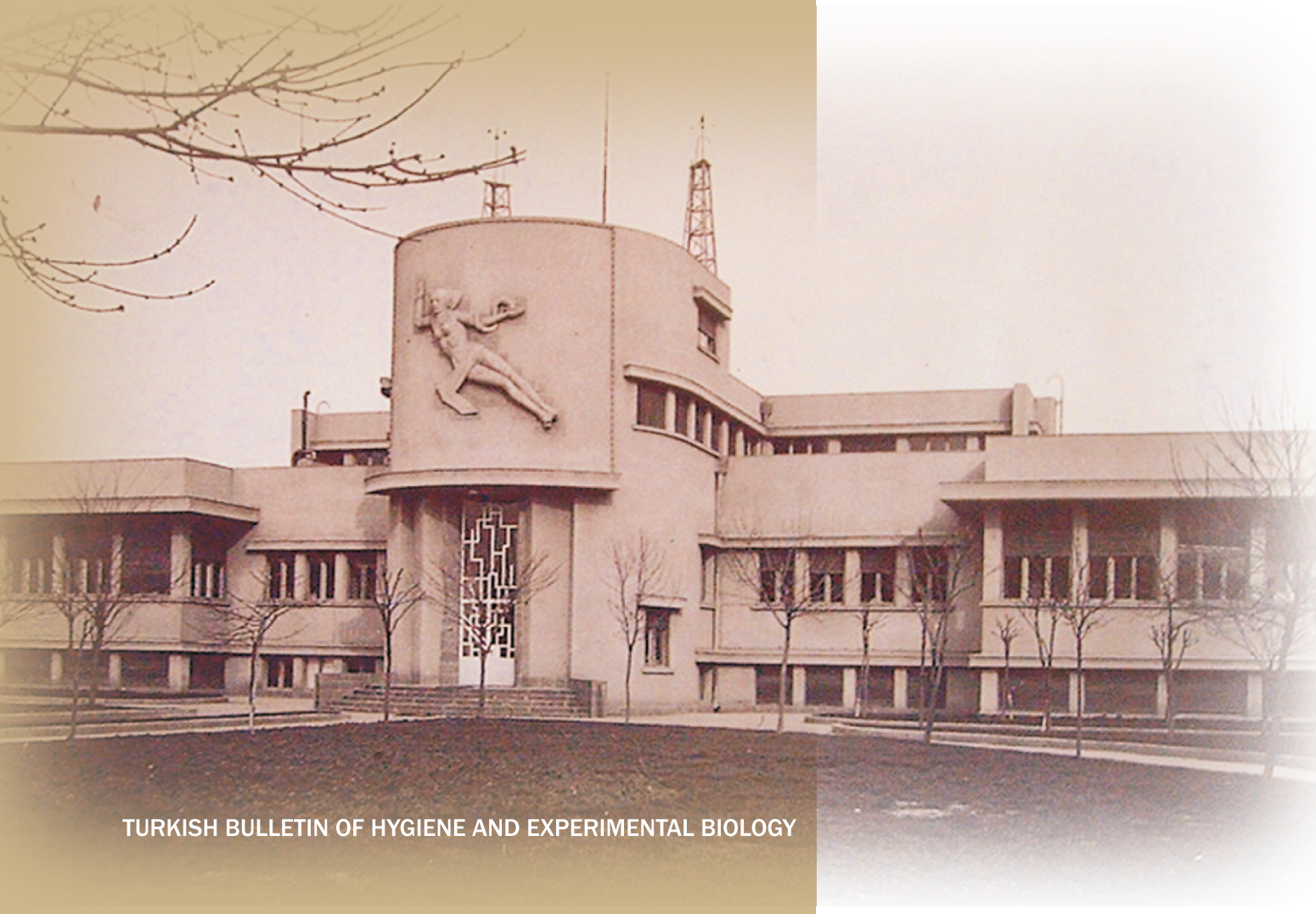


T.C. Sağlık Bakanlığı  
Türkiye Halk Sağlığı  
Kurumu

T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 72 ■ Sayı/Number 2 ■ Yıl/Year 2015







T.C. Sağlık Bakanlığı  
Türkiye Halk Sağlığı  
Kurumu

T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU

T.R.  
THE MINISTRY OF HEALTH  
PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

ISSN 0377-9777 (Basılı / Printed)

ISSN 1308-2523 (Çevrimiçi / Online)

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 72 ■ Sayı/Number 2 ■ Yıl/Year 2015

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND  
EXPERIMENTAL BIOLOGY

Turk Hij Den Biyol Derg



# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

## TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Sahibi / Owner

**Türkiye Halk Sağlığı Kurumu adına**  
On behalf Public Health Institution of Turkey

**İrfan ŞENCAN, Başkan (President)**

### İDARİ KURUL / ADMINISTRATIVE BOARD

Kamil TÜRKMEN  
Alev YÜCEL  
Bekir KESKİNKILIÇ  
Seher MUSAONBAŞIOĞLU  
Zeki KORKUTATA

### EDİTÖR / EDITOR IN CHIEF

Hasan IRMAK

### EDİTÖR YARDIMCILARI / DEPUTY EDITORS

Yavuz UYAR  
Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN  
Demet CANSARAN-DUMAN  
Nurhan ALBAYRAK  
Pınar KAYNAR

### YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Fatih BAKIR  
Mestan EMEK  
Selin NAR-ÖTGÜN  
Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK  
Mehmet Kürşat DERİCİ  
Meryem JEFFERIES  
Özcan ÖZKAN  
Şule ŞENSES-ERGÜL  
Arşun ESMER  
Sibel KARACA

### TEKNİK KURUL / TECHNICAL BOARD

Ahmet Murad BAYRAM  
Murat DUMAN  
Zeynep KÖSEOĞLU  
Selahattin TAŞOĞLU

**TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU**  
PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY  
**ANKARA-TÜRKİYE**

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

**DÜZELTME** : 72. cilt 1. sayımızda Dergi İdare Kurulu üyesi Sn. Kamil TÜRKMEN'in soyadı yanlışlıkla ZENGİN olarak yazılmıştır. Düzeltir, özür dileriz.

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

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

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

**Koza Basım~Yayın**  
Özveren Sok. No: 13/A Kızılay-Ankara  
Tel: +90 312 229 37 41-42  
e-posta: anilgroupkoza@hotmail.com

#### Yayın Türü / Type of Publication :

Yerel Süreli Yayın / Periodical Publication

#### Basım Tarihi / Date of Publication :

2015

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

## ULUSLARARASI BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / INTERNATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Ali MIRAZIMI, Sweden

Anna PAPA, Greece

Aziz SANCAR, USA

Cristina DOMINGO, Germany

Daniel MOTLHANKA, Botswana

Dwight D. BOWMAN, USA

Isme HUMOLLI, Kosovo

Isuf DEDUSHAJ, Kosovo

Iva CHRISTOVA, Bulgaria

Johan LINDH, Sweden

Kosta Y. MUMCUOĞLU, Israel

Manfred WEIDMANN, U.Kingdom

Paul HEYMAN, Belgium

Pauline MWINZI, Kenya

Roberto Caneta VILLAFRANCE, Cuba

Sıraç DİLBER, Sweden

Susana RODRIGUEZ-COUTO, Spain

Takashi AKAMATSU, Japan

Varalakshmi ELANGO, India

## ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

A. Gülçin SAĞDIÇOĞLU-ÇELEP, Ankara

Ahmet ÇARHAN, Ankara

Ahmet KART, Ankara

Akçahan GEPDİREMEN, Bolu

Ali ALBAY, Ankara

Ali Kudret ADİLOĞLU, Ankara

Ali Naci YILDIZ, Ankara

Alp ERGÖR, İzmir

Alper AKÇALI, Çanakkale

Arsun ESMER, Ankara

Aşkın YAŞAR, Ankara

Ateş KARA, Ankara

Aydan ÖZKÜTÜK, İzmir

Ayhan FİLAZİ, Ankara

Aykut ÖZKUL, Ankara

Ayşegül TAYLAN ÖZKAN, Çorum

Banu ÇAKIR, Ankara

Bekir ÇELEBİ, Ankara

Belgin ÜNAL, İzmir

Berrin ESEN, Ankara

Birce TABAN, Ankara

Bülent ALTEN, Ankara

Celal F. GÖKÇAY, Ankara

Cemal SAYDAM, Ankara

Çağatay GÜLER, Ankara

Delia Teresa SPONZA, İzmir

Demet CANSARAN DUMAN, Ankara

Dilek ASLAN, Ankara

Dilek YAĞCI ÇAĞLAYIK, Ankara

Diler ASLAN, Denizli

Doğan YÜCEL, Ankara

Duygu ÖZEL DEMİRALP, Ankara

Duygu TUNCER, Ankara

Dürdal US, Ankara

Ender YARSAN, Ankara

Erhan ESER, Manisa

Erkan YILMAZ, Ankara

Fatih BAKIR, Ankara

Fatih KÖKSAL, Adana

Fügen DURLU ÖZKAYA, Ankara

Fügen YÖRÜK, Ankara

Gönül ŞAHİN, Ankara

Görkem MERGEN, Ankara

Gül ERGÖR, İzmir

Gül Ruhsar YILMAZ, Ankara

Gülberk UÇAR, Ankara

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

## ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

- Gülnur TARHAN, Adıyaman  
Hakan ABACIOĞLU, İzmir  
Hakan LEBLEBİCİOĞLU, Samsun  
Haluk VAHABOĞLU, İstanbul  
Hasan TEZER, Ankara  
Hilal ÖZDAĞ, Ankara  
Hürrem BODUR, Ankara  
Işıl MARAL, İstanbul  
İ.Mehmet Ali ÖKTEM, İzmir  
İrfan EROL, Ankara  
İrfan ŞENCAN, Ankara  
İsmail CEYHAN, Ankara  
Kemal Osman MEMİKOĞLU, Ankara  
Koray ERGÜNAY, Ankara  
Levent AKIN, Ankara  
Mahinur AKKAYA, Ankara  
Mehmet Ali ONUR, Ankara  
Mehmet Kürşat DERİCİ, Ankara  
Meryem JEFFERIES, Ankara  
Mestan EMEK, İzmir  
Metin KORKMAZ, İzmir  
Mithat ŞAHİN, Kars  
Muhsin AKBABA, Adana  
Murat DİZBAY, Ankara  
Murat GÜNAYDIN, İstanbul  
Murat HÖKELEK, İstanbul  
Mustafa KAVUTÇU, Ankara  
Mutlu ÇELİK, Kocaeli  
Mükerrem KAYA, Erzurum  
Nazmi ÖZER, Ankara  
Nilay ÇÖPLÜ, Ankara  
Nur AKSAKAL, Ankara  
Nur Münevver PINAR, Ankara  
Nuran ESEN, İzmir  
Nurhan ALBAYRAK, Ankara  
Nuri KIRAZ, İstanbul  
Oğuz GÜRSOY, Denizli  
Orhan BAYLAN, İstanbul  
Orhan YILMAZ, Ankara  
Ömer Faruk TEKBAŞ, Ankara  
Özcan ÖZKAN, Ankara  
Özlem KURT AZAP, Ankara  
Pınar KAYNAR, Ankara  
Pınar OKYAY, Aydın  
Rahmet GÜNER, Ankara  
Recep AKDUR, Ankara  
Recep KEŞLİ, Afyon  
Recep ÖZTÜRK, İstanbul  
Rıza DURMAZ, Ankara  
S. Aykut AYTAÇ, Ankara  
Sami AYDOĞAN, Kayseri  
Seçil ÖZKAN, Ankara  
Seda KARASU YALÇIN, Bolu  
Seda TEZCAN, Mersin  
Selçuk KAYA, Trabzon  
Selçuk KILIÇ, Ankara  
Selim KILIÇ, Ankara  
Selin NAR ÖTGÜN, Ankara  
Sema BURGAZ, Ankara  
Sercan ULUSOY, İzmir  
Sibel KARACA, Ankara  
Sultan ESER, İzmir  
Suzan ÖZTÜRK YILMAZ, Sakarya  
Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Manisa  
Sümer ARAS, Ankara  
Şule SENSES ERGÜL, Ankara  
Tevfik PINAR, Kırıkkale  
Yavuz UYAR, İstanbul  
Yeşim ÇETİNKAYA ŞARDAN, Ankara  
Yeşim ÖZBAŞ, Ankara  
Yeşim TUNÇOK, İzmir  
Zafer ECEVİT, Ankara  
Zafer KARAER, Ankara  
Zati VATANSEVER, Kars  
Zehranur YÜKSEKDAĞ, Ankara  
Zeynep GÜLAY, İzmir

## TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ YAZIM KURALLARI

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 11. Araştırma yazıları;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

16. Bu kurallara uygun olmayan metinler kabul edilmez.

17. Yazarlar teslim ettikleri yazının bir kopyasını saklamalıdır.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu

Tel : (0312) 565 55 79

Faks : (0312) 565 54 55

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 11. Research Articles;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

12. Research articles should have up to 40 references.

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

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

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

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

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

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

Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

Public Health Institution of Turkey

Tel : +90 312 565 55 79

Fax : +90 312 565 54 55

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



# TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

## YAYIN İLKELERİ

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

## YAZAR(LAR) İÇİN MAKALE KONTROL LİSTESİ

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

## EDITORIAL POLICY

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

## CHECKLIST OF THE ARTICLE FOR AUTHOR(S)

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

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne  
[www.turkhijyen.org](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.



DOAJ DIRECTORY OF  
OPEN ACCESS  
JOURNALS



INDEX COPERNICUS  
INTERNATIONAL



SCIRUS  
for scientific information only

Academic Journals Database  
disseminating  
quality controlled scientific knowledge



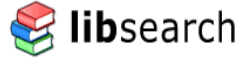
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi (Türk Hij Den Biyol Derg); CAB Abstracts (Abstracts on Hygiene and Communicable Diseases, Diagnosis of Human Diseases, Tropical Diseases Bulletin, Global Health, AgBiotech, Veterinary Abstracts, Food Contamination, Residues and Toxicology, Human Toxicology and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

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



Akademik Dizin  
Akademik Türk Dergileri İndeksi

TÜRKİYE ATIF DİZİNİ



Scopus



## İLETİŞİM

## CORRESPONDENCE

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu  
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

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

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

Tel: 0312 565 55 79

Faks: 0312 565 54 55

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

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

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



## ■ Araştırma Makalesi / Original Article

1. Akut bruselloz tanısında polimeraz zincir reaksiyonu yönteminin kullanımı  
**Diagnosis of acute brucellosis by polymerase chain reaction technique**  
 Sabahat ÇEKEN, Sedat KAYGUSUZ, Dilek KILIÇ, Canan AĞALAR  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.60437 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

---

2. *Staphylococcus aureus* suşlarında koagulaz testi için uygun sıcaklığın araştırılması  
**Investigation of optimum temperature for coagulase test in *Staphylococcus aureus* strains**  
 Birgül KAÇMAZ, Serdar GÜL, Doğan Barış ÖZTÜRK, Emine ECEMİŞ  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.22438 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

---

3. Anti-dsDNA antikorlarının saptanmasında üç ELISA yönteminin CLIF testiyle karşılaştırılması  
**Comparison of three ELISA methods with CLIF test for detection of anti-dsDNA antibody**  
 Feyza ÇETİN, Alparslan TOYRAN, Özlem AYTAÇ, Feride ALACA-COŞKUN, İpek MUMCUOĞLU, Feyza ALP, Altan AKSOY  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.88393 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

---

4. Çocuk acil servisinde kene tutunması: asemptomatik olgularda laboratuvar gerekli mi?  
**Tick bite in pediatric emergency department: is laboratory necessary in asymptomatic patients**  
 Sinan OĞUZ, Veli KORKMAZ, Funda KURT, Deniz TEKİN, Emine SUSKAN  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.09471 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

---

5. Son iki yılda Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Hastanesi'nde kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi  
**Evaluation of microorganisms isolated from blood cultures and antibiotic sensitivity obtained at Kahramanmaraş Necip Fazıl City Hospital in the last two years**  
 Esra ÖZKAYA, Seray TÜMER, Özlem KİRİŞÇİ, Ahmet ÇALIŞKAN, Pınar ERDOĞMUŞ  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.49260 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

---

6. Çorum Bölgesi kan bağışçılarında HBsAg, anti-HCV, HIV ve VDRL seropozitiflik oranları  
**Seropositivity rates of HBsAg, anti-HCV, HIV and VDRL in blood donors in Corum, Turkey**  
 Ayşe Semra GÜRESER, Semra ÖZÇELİK, Zehra İlkay BOYACIOĞLU, Leyla ÖZÜNEL, Ünver YILDIZ, Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.30974 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

---

7. Investigation of three different methods for detection of ESBL production and antibiotic resistance percentage of ESBL producing Gram negative bacteria  
**Gram negatif bakterilerde GSBL üretiminin üç farklı yöntemle araştırılması ve antibiyotik direnç oranları**  
 Mustafa GÜZEL, Yasemin GENÇ, Altan AKSOY, Penka MONCHEVA, Petya HRİSTOVA  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.33239 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")

## ■ Olgu Sunumu / Case Report

8. Endoscopic extraction of *Fasciola hepatica*: a case report  
***Fasciola hepatica*'nın endoskopik olarak çıkarılması: bir vaka**  
 Nevzat ÜNAL, Yeliz TANRIVERDİ-ÇAYCI, Özgür ECEMİŞ, Ahmet BEKTAŞ, Murat HÖKELEK  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.38259 (Dili: "İngilizce" - Language: "English")

## ■ Derleme / Review

9. D vitamini metabolik sendrom bileşenlerini etkiler mi?  
**Does vitamin D affects components of the metabolic syndrome?**  
 Sevil KARAHAN-YILMAZ, Aylin AYAZ  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.46693 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

---

10. Meme kanseri mikrodizin verilerinin biyoinformatik yöntemler ile bir araya getirilmesi - Meta-analiz yaklaşımları  
**Combination of breast cancer microarray data by using bioinformatic methods - Meta-analysis approaches**  
 Yasemin ÖZTEMUR, Alp AYDOS, Bala GÜR-DEDEOĞLU  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.54254 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

---

11. Pet hayvanlardan insanlara bulaşan önemli bakteriyel enfeksiyonlar  
**Important bacterial infections transmitted to humans from pet animals**  
 Gökçen DİNÇ, Mehmet DOĞANAY, Müjgan İZGÜR  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.81557 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish")

91 - 98



99 - 102



103 - 108



109 - 114



115 - 122



123 - 130



131 - 138



139 - 142



143 - 154



155 - 162



163 - 174





# Akut bruselloz tanısında polimeraz zincir reaksiyonu yönteminin kullanımı

## Diagnosis of acute brucellosis by polymerase chain reaction technique

Sabahat ÇEKEN<sup>1</sup>, Sedat KAYGUSUZ<sup>2</sup>, Dilek KILIÇ<sup>2</sup>, Canan AĞALAR<sup>3</sup>

### ÖZET

**Amaç:** Bruselloz, pek çok ülkede olduğu gibi ülkemiz için de önemli bir halk sağlığı sorunu olan zoonozdur. Özgül olmayan şikayetler ve bulgularla seyreden hastalığın tanısında altın standart olan kültürde bakteriyi üretmek oldukça zor ve zaman alıcıdır. Rutinde daha sık kullanılan serolojik yöntemlerin çapraz reaksiyonlardan dolayı özgülüğü düşüktür. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) gibi moleküler yöntemler pek çok enfeksiyon hastalığı gibi brusellozun erken ve hızlı tanısında iyi bir alternatif yöntemdir. Bu çalışmada, bruselloz tanısında PZR yönteminin konvansiyonel yöntemlerle karşılaştırılması amaçlandı.

**Yöntemler:** Çalışma grubu bruselloz ön tanı 35 hasta ve 20 sağlıklı gönüllüden oluşturuldu. Hasta ve kontrol grubundan serolojik çalışma için serum, PZR için tam kan alınırken, hastalardan ateşli oldukları dönemde kan kültürleri alındı. Tam kan örneklerinden elde edilen lökosit pelletlerinden DNA izolasyonu yapıldı ve brusella DNA' sını in house PZR yöntemiyle tespit edildi.

**Bulgular:** Hastaların Standart tüp aglütinasyon (SAT) değeri 1 olguda 1/80 iken, diğerlerinde  $\geq 1/160$  idi. Bunların 16'sında kan kültürü pozitif bulundu. Kontrollerin SAT değerleri negatif idi. PZR yöntemiyle yapılan çalışmada hastaların %97'sinde pozitiflik saptanırken kontrollerin hepsi negatif bulundu.

### ABSTRACT

**Objective:** Brucellosis is a zoonotic disease which is a public health problem in our country like many parts of the world. The illness has nonspecific symptoms and physical signs. Bacterial culture is gold standard in the diagnosis of brucellosis but it is difficult and time consuming, so serologic techniques are used routinely. But serologic techniques have low specificity because of cross reactions. Molecular methods like polymerase chain reaction (PCR) are good alternatives in the early and rapid diagnosis of brucellosis, as it is in other infectious diseases. The aim of this study was to compare PCR method with conventional methods in the diagnosis of brucellosis.

**Methods:** The study included 35 patients and 20 healthy volunteers. Sera for serology and whole blood samples for PCR were collected from each subject in both groups. DNA was extracted from peripheral mononuclear cells obtained from the blood samples and an in house PCR assay was used to detect brucella DNA.

**Results:** Standart tube agglutination (STA) titers of most patients were  $\geq 1/160$ , except one patient which was 1/80. Blood cultures were positive for 16 patients. The STA titers of all controls were negative. PCR was positive for 97% of the patients and all of the volunteers were negative.

<sup>1</sup> Dr. A. Y. Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, ANKARA

<sup>2</sup> Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, KIRIKKALE

<sup>3</sup> Fatih Sultan Mehmet Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Sabahat ÇEKEN

Dr. A. Y. Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enf. Hast. ve Klinik Mikrobiyoloji Kli., ANKARA

Tel : +90 532 798 91 21

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

Geliş Tarihi / Received : 07.06.2014

Kabul Tarihi / Accepted : 26.01.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.60437

Çeken S, Kaygusuz S, Kılıç D, Ağalar C. Akut bruselloz tanısında polimeraz zincir reaksiyonu yönteminin kullanımı. Turk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(2): 91-98.

**Sonuç:** Kullanılan PZR yönteminin erken ve hızlı tanıda yüksek duyarlılıkta olduğu, bu nedenle bruselloz hızlı ve doğru tanısı için kullanılmasının uygun olacağı sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Bruselloz, tanı, PZR

**Conclusion:** It is concluded that the tested PCR assay has high sensitivity in the diagnosis of brucellosis and it may be used in rapid and accurate diagnosis of brucellosis.

**Key Words:** Brucellosis, diagnosis, PCR

## GİRİŞ

Bruselloz, Brusella cinsi bakterilerin neden olduğu ve insanlara genellikle pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi ile ya da enfekte materyallere direk temasla bulaşabilen bir zoonozdur (1). Uzun süreli ve özgül olmayan şikayetlerle seyreden hastalık özellikle Akdeniz ülkeleri ve gelişmekte olan ülkelerde önemli bir halk sağlığı sorunudur. Ülkemizde de endemik olarak görülmektedir (2, 3). Neden olduğu hastalık boyutunun ciddiyeti ve insanlar için uygun olmamasından dolayı biyoterörizm ajanı olarak da kullanılabilir (4). Brusellozun kesin tanısı mikroorganizmanın kan, kemik iliği veya diğer enfekte dokulardan üretilmesi ile konur. Brusella cinsi bakterilerin in vitro şartlarda zor ve yavaş üremeleri nedeniyle tanıda zorluklar yaşanmaktadır. Ayrıca önceden antibiyotik kullanımı da bakterinin üreme ihtimalini azaltmaktadır. Bu yüzden bruselloz tanısında serolojik tanı yöntemleri izolasyondan daha çok önem kazanmıştır (5, 6).

Serolojik tanıda standart tüp aglütinasyon testi (SAT) en çok kullanılan yöntemdir. Bu yöntemin duyarlılığı yüksek olmakla beraber, *Francisella tularensis* ve *Yersinia enterocolitica*'ya karşı oluşan antikorlarla çapraz reaksiyon vermesinden dolayı, özgüllüğü düşüktür (7, 8). Ayrıca SAT uygun tedavi protokolünün seçiminde ve hastalığın seyrini göstermede önemli olan farklı immünglobulin sınıflarını da ayırt edemez. Akut bruselloz belirti ve bulguları olan hastalarda özgül antikorların varlığı ve titrelerinin saptanmasında SAT uygun bir testtir. Fakat inkübasyon döneminde, kronik bruselloz ve özellikle aşılama veya enfeksiyon sonucu oluşan antikorların ayrımında kullanımı sınırlıdır (9, 10).

Konvansiyonel tanı yöntemlerindeki bu olumsuzluklar nedeniyle moleküler tanı teknikleri iyi bir alternatiftir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) Brusella tanımlamasında kültür ve serolojik testlerden daha duyarlı olarak kabul edilmektedir (11, 12). Tüm klinik materyallerde çalışılabilir olması da bu yöntemin avantajıdır (11).

Bu çalışmada, bruselloz tanısında PZR yönteminin konvansiyonel yöntemlerle karşılaştırılarak erken ve doğru tanı için değerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma grubu Ocak-Haziran 2007 tarihleri arasında Enfeksiyon Hastalıkları polikliniğimize başvuran ve klinik açıdan akut bruselloz olduğu düşünülen 35 hastadan oluşturuldu. Hasta grubu SAT değeri  $\geq 1/160$  olan ve/veya kan kültüründe *Brucella* spp. üretilen hastalar ile SAT değeri  $< 1/160$  olup Coombs'lu serumla tüp aglütinasyonu  $\geq 1/320$  olan hastalar olarak belirlendi. Kronik bir hastalığı olanlar ve hastaneye başvurmadan önce antibiyotik kullanmış olanlar çalışmadan çıkarıldı. Kontrol grubu ise hastaneye başka sebeplerden başvuran klinik olarak bruselloz düşünülmeyen, SAT titresi negatif olan gönüllü kişilerden oluşturuldu.

Çalışma için etik kurul onayı alınarak çalışmaya katılan her hastaya çalışmanın amacı anlatıldı ve yazılı izinleri alındı. Her hasta tarafından standart bir anket (yaş, cinsiyet, telefon, şikayet, şikayetlerin süresi, kullanılan tedavi) dolduruldu. Hasta grubundan ateşli oldukları dönemde ikişer adet kan kültürü alındı. Her



hastadan serolojik inceleme ve PZR için kan örnekleri alındı.

#### Kültür:

Hastaların kan kültürleri Bactec 9050 (Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Md, USA) otomatize sistemi ile 30 gün süre ile inkübe edildi. İnkübasyonun 10, 20 ve 30. günlerinde üremeyen örneklerden kör pasajlar yapıldı. Brusella agar ve kanlı agar besiyerlerinde 48 saatlik inkübasyon sonucunda üreyen yaklaşık 2 mm çapında, yuvarlak, saydam, hemolizsiz, pigmentsiz kolonilerden Gram boyama yapıldı. Gram negatif kokobasil olarak görülen mikroorganizmalar biyokimyasal yöntemlerle tiplendirildi. Bunun için H<sub>2</sub>S üretimi, oksidaz, katalaz, hareket, indol, Voges-Proskauer testi, sitrat, nitrat redüksiyonu, jelatin hidrolizi gibi biyokimyasal reaksiyonlar ve anti-Brucella poliklonal serum ile lam aglütinasyonu yöntemleri kullanıldı (5, 13, 14)

#### Seroloji:

Serolojik tanı için hasta ve kontrol grubundan alınan serum örneklerinde Brusella antikoru SAT yöntemi ile araştırıldı. *B. abortus* S99 suşu ile hazırlanmış standart Brusella antijeni Ankara Refik Saydam Hızsıhha Merkezi Başkanlığı'ndan temin edildi. SAT  $\geq 1/160$  olan titreler pozitif olarak kabul edildi. SAT negatif olanlar serum fizyolojik (SF) ile üç defa yıkanıp Coombs reaktifi eklenerek tekrar sulandırıldı ve 37 °C'de 24 saat bekletilip aglütinasyon olup olmadığına bakıldı (10, 15 - 17). Coombs testi için kullanılan anti human globulin (Lorne Labs, Twyford, İngiltere) ticari olarak temin edildi .

#### PZR Uygulaması

PZR'de kullanılan DNA örnekleri hasta lökositlerinden elde edildi. Taze kandan lökosit izolasyonu için ficoll (PAA Laboratories GmbH, Haidmannwog, Pasing, Avusturya) kullanıldı. DNA, DZ DNA izolasyon kiti (Dr Zeydanlı, Türkiye) kullanılarak fenol kloroform yöntemi ile izole edildi.

DNA ekstraksiyonu için çalışmaya başlamadan önce Sol A'yı oluşturmak için tüp içerisine 1 ml

DNase-RNase serbest saf su eklendi. Sıvıdan 250-300 µl alınarak DNA izolasyonunda kullanıldı. 1,5 ml'lik ependorf tüp içine 20 µl Sol A, üzerine 250 µl hasta lökosit süspansiyonu ve 500 µl Sol B konuldu. Tüp, solüsyonların karışması için alt üst edildi ve 42 °C'de 1 saat süreyle bekletildi. İnkübasyondan sonra tüpe 500 µl Sol C (iki fazlı olan solüsyonun alt fazından) konuldu. Karışım vortekslendi ve 10.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüjden sonra tüpte 2 faz olduğu görüldü. Berrak olan üst kısım temiz bir ependorfa alınarak, üzerine 500 µl sol D ilave edildi ve hafifçe vortekslendi. Karışım daha sonra 10.000 rpm de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant atılarak tüpün üzerine 500 µl Sol E konuldu ve 10.000 rpm'de 5 dk santrifüj edilip süpernatant kısmı atıldı. Tüpler 37 °C etüve konularak alkol uçuruldu. Elde edilen bakteri DNA'sı 50 µl distile su ile sulandırıldı.

#### PZR Programı

*B. abortus*'un 31 kDa'luk antijenini kodlayan genin 223 baz çiftlik bölgesinin çoğaltılması için Baily ve arkadaşları tarafından tanımlanan B4 (5'-TGG CTC GGT TGC CAA TAT CAA-3') (P1)ve B5 (5'-CGC GCT TGC CTT TCA GGT CTG-3') (P2) primerleri (MWG, Almanya) kullanıldı (18). 500 µl P1+P2 (10 pmol) hazırlamak için 50 µl P1 (forward primer, 100 pmol) ve 50 µl P2 (reverse primer, 100 pmol) ependorf tüpte birleştirildikten sonra üzerine 400 µl dH<sub>2</sub>O ilave edildi. Toplam 50 µl reaksiyon hacmi oluşturacak şekilde 10X PZR buffer (Bioron/Almanya,) 5 µl, 25 mM MgCl<sub>2</sub> 4 µl, dNTP 0,2 µl, P1+P2 1,5 µl, Taq DNA polimeraz 0,5 µl, dH<sub>2</sub>O 33,8 µl ve 5 µl DNA karışımı hazırlandı. Reaksiyon karışımları %95 °C'de 5 dk başlangıç ayrılması, 95 °C'de 15 sn ayrılma, 60 °C'de 1 dk bağlanma, 72 °C'de 1 dk uzama ısısı olmak üzere 40 döngü çoğaltma yapıldı. Çoğaltma ürünü %2 agaroz jelde yürütüldü. PZR reaksiyonunda pozitif kontrol olarak Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarında var olan bir pozitif örnek, negatif kontrol olarak "DNA- RNA free" su kullanıldı.

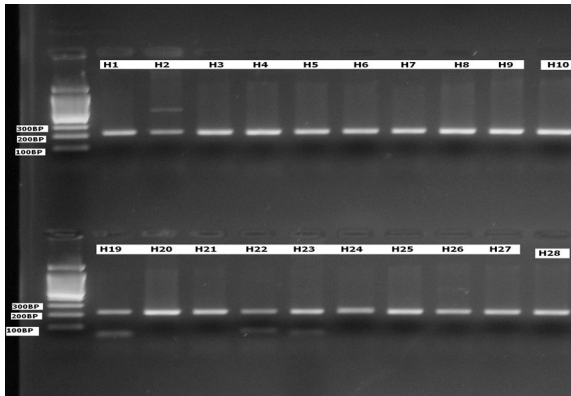
## BULGULAR

Çalışmaya alınan bruselloz ön tanılı hastaların 20 (%57,1)'si erkek, 15 (%42,9)'i kadını idi. Kontrol grubu ise 12 (%60) erkek, 8 (%40) kadından oluşuyordu. Hastaların yaş ortalaması  $42,1 \pm 16,4$ , Kontrol grubunun ise  $46,2 \pm 12,8$  idi. Gruplar arasında yaş ortalaması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p=0,34$ , student t test)

Hastaların 34'ünde SAT  $\geq 1/160$  iken, titresini 1/80 olan bir hastada yapılan Coombs testinde de titre değişmedi. Hastaların 16' sında kan kültüründe üreme saptanmıştır (Tablo 1).

**Tablo 1.** Hastaların SAT titreleri, kültürde mikroorganizma üreme oranları ve PZR pozitifliği

SAT titresini	Sayı (%)	Kültürde Üreme Sayı (%)	PZR Pozitifliği Sayı (%)
1/80	1 (3)	1 (3)	1 (3)
1/160	17 (49)	9 (26)	16 (46)
1/320	10 (28)	2 (5)	10 (28)
1/640	6 (17)	3 (8)	6 (17)
1/1280	1 (3)	1 (3)	1 (3)
<b>Toplam</b>	<b>35 (100)</b>	<b>16 (45)</b>	<b>34 (97)</b>



**Şekil 1.** Hasta grubunda PZR pozitifliğinin agaroz jelde gösterilmesi

Kültür ve seroloji ile bruselloz tanısı konulan hastaların in house PZR ile 34 (%97)'ünde pozitiflik tespit edildi. Kontrol grubunda bütün sonuçlar negatif olduğundan özgüllük %100 olarak belirlendi.

## TARTIŞMA

Bruselloz, ülkemizin de içinde bulunduğu Akdeniz ülkeleri, Orta Doğu ve Güney Amerika'da önemli halk sağlığı sorunu olan bir zoonozdur. DSÖ her yıl 500.000 yeni bruselloz olgusunun saptandığını bildirmektedir. Bildirimlerin tam olmaması nedeniyle bu sayının daha da fazla olduğu tahmin edilmektedir (19). Ülkemizde bruselloz olgularının bölgelere göre dağılımına bakıldığında Kırıkkale ilinin de bulunduğu İç Anadolu Bölgesi, Güneydoğu Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinden sonra sonra üçüncü sırada gelmektedir (20). Kırıkkale'de 1998 - 2003 yılları arasında yapılan seroprevelans çalışmasında seropozitiflik oranı %5,2 olarak bulunmuştur (21).

Brusellozun tanısı kültür ve seroloji gibi konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemlere dayanmaktadır. Patojenin kan kültüründe üretilmesi altın standarttır. Fakat uzun bir inkübasyon süresi gerektirmesi, laboratuvar kaynaklı enfeksiyon riski ve mikroorganizmanın üretilmesinin her zaman mümkün olmaması nedeniyle (%15-70) erken tanı için serolojik yöntemler öne çıkmıştır (1, 6). Brusella antijenlerine karşı antikorların araştırıldığı bu testlerin erken hastalık döneminde negatif olması, serolojik çapraz reaksiyonlar gösterebilmesi ve tedaviden sonra antikor yüksekliğinin uzun süre devam etmesine bağlı olarak tedavi takibinde kullanılmama gibi dezavantajları vardır (1, 11).

PZR yöntemi, pek çok enfeksiyon hastalığının tanısında kullanılan hızlı ve duyarlılığı yüksek moleküler bir tanı metodudur. Brusella enfeksiyonlarını tespit etmek için farklı PZR teknikleri ve ekstraksiyon yöntemleri denenmiştir. Brusella DNA'sı elde etmek için insan ve hayvan doku örnekleri, kan, idrar, BOS, serum gibi pek çok materyal kullanılmıştır. En yaygın kullanılan klinik örnekler kan ve serumdur (5, 11).

Bulaştan sonraki on gün içerisinde *Brucella* spp.'yi tespit edebilen PZR'ye dayalı testler; geleneksel yöntemlerle kıyaslandığında sürat ve duyarlılık açısından daha ümit verici olarak değerlendirilmektedir. Bununla beraber *Brucella* spp. için yapılan çeşitli PZR yöntemlerinin özgüllük ve duyarlılığı farklı olup, örneğin hazırlanması, "primer" tespiti ve DNA izolasyon yöntemleri tam olarak standardize edilememiştir (5, 22).

Bruselloz tanısında mikroorganizmanın tür düzeyinde tespiti tedaviyi çok fazla etkilemediği için çok gerekli değildir. Bu yüzden Brusella PZR çalışmalarında seçilen hedef genler ve primer çiftlerinin mümkün olduğunca bütün türler ve biyotipler için duyarlı olan ve diğer bakterilerle negatif sonuç verecek özgüllükte olmasına çalışılmıştır. Bu konuda yapılan ilk çalışmada Fekete ve ark., *B. abortus*'un 43 kDa'luk bir dış membranını kodlayan bölgeyi hedef olarak seçmişlerdir (23). Baily ve ark.'nın 1992'de yaptığı çalışmada ise 31 kDa'luk *B. abortus* antijenini kodlayan 223 baz çiftlik BCSP31 hedef sekansı kullanılmıştır. B4 ve B5 primerleri ile yapılan PZR yöntemi *B. abortus* ve *B. melitensis* için duyarlı ve özgül bulunmuştur (23).

Belçika'da Herman ve ark. tarafından *B. abortus*'un 16S rRNA gen sekansından elde edilen primerler kullanılarak yapılan PZR sonucunda güvenilir sonuçlar elde edilmiştir (24). Yine İspanya'da Romero ve ark. tarafından yapılan çalışmada aynı sekanstan 6 farklı primer kullanılarak Brusella tespit edilmiştir (25). Brusella türlerinin RNA homolojisinin %100'e yakın olmasından dolayı *B. abortus*'un 16S geninden seçilen primerlerin diğer Brusella türlerini de tespit edebildiği gösterilmiştir. Bu çalışmaların özgüllüğü test edildiğinde *Ochrobacterium anthropi* dışında filogenetik olarak akraba olan hiçbir mikroorganizma pozitif bulunmamıştır (24, 25).

PZR çalışmalarında, duyarlılığın en önemli etkenlerinden biri uygun primer çiftleri çalışmaya dayanmaktadır. Navarro ve ark., 31 kDa'luk *B. abortus* antijenini kodlayan (B4/B5), 16S rRNA gen sekansından elde edilen (F4/R2) ve bir dış

membran proteini olan Omp2'den (JPF/JPR) elde edilen primerleri kullanarak yaptıkları çalışmada; F4/R2'nin Brusella DNA'sını belirlemede etkili primer çifti olduğunu bildirmişlerdir (26). Nimri ve ark.'nın F4/R2 primerini kullanarak yaptıkları çalışmada ise duyarlılık %85,7, özgüllük %100 olarak bildirilmiştir (27).

Queipo-Ortuno ve ark.'nın B4 ve B5 primerlerini kullanarak yaptıkları çalışmada, hastalardan alınan 50 tam kan örneğinin hepsinde PZR pozitif bulunurken, 60 kontrolden alınan örneklerden sadece biri pozitif bulunmuştur. Bu sonuçlara göre PZR'nin bruselloz tanısında %100 duyarlı, %98,3 özgül olduğu rapor edilmiştir (28). Matar ve ark. aynı primerleri kullanarak 17'si akut, 3'ü relaps olmak üzere, 20 hastada yaptıkları çalışmada PZR'nin duyarlı olduğunu göstermişlerdir. Negatif kontrol olarak kullanılan 9 tifolu hasta ve 30 sağlıklı kişide ise PZR negatif bulunmuştur. Bu çalışmada sonuçların 24 saatten kısa bir sürede alınmasının klinisyen için erken ve doğru tanı sağladığı vurgulanmıştır (29).

Biz de çalışmamızda daha önce pek çok çalışmada kullanılan *B. abortus*'un 31 kDa'luk antijenini kodlayan genin 223 baz çiftlik bölgesini hedef alan B4 ve B5 primerlerini kullanarak bir PZR yöntemini uyguladık (28, 30). Hasta grubunda pozitiflik oranı tarafımızca %97 olarak bulunmuştur. Elde ettiğimiz bu oran diğer çalışmalardaki gibi yüksek duyarlılıkta idi.

PZR yöntemi için hangi materyalin daha uygun olduğunu belirlemek de önemlidir. Mitka ve ark., Yunanistan'da 200 hastada dört farklı PZR yöntemi ile serum, tam kan, lökosit (buffy coat) kullanarak yaptıkları çalışmada lökosit ve tam kanın Brusella PZR için en uygun materyaller olduğu, özellikle relapsları belirlemede tedavi sonrası serumda bulunan bakteri miktarının çok az olmasından dolayı yalnızca negatifliğe neden olabileceği belirtilmiştir (31). Bizim çalışmamızda da hastalardan EDTA'lı tüpe alınan kan örneklerinden elde edilen lökosit pelleti kullanılarak yapılan PZR yönteminde aldığımız sonuçlar Mitka ve ark.'nın sonuçlarına benzemektedir.

Al- Nakkas ve ark.'nın tam kan kullanarak yaptıkları bir çalışmada 89'u kültür pozitif olan 199 Bruselloz hastasının 193'ünde PZR pozitif bulunmuştur. Farklı enfeksiyonları olan 244 hastada ise Brusella PZR negatif bulunmuştur. Bu sonuçlara göre duyarlılık %97, özgüllük %100 olarak belirtilmiştir (32).

Morata ve ark., bruselloz tanısında periferik kanda yapılan PZR testinde etkili olabilecek parametreleri incelediği çalışmada kan örneklerinde hemoliz sonucu bulunan hem bileşenlerinin ve ortamda bulunan toplam DNA miktarının PZR sonucunu etkileyebileceğini düşünmüşler ve kültür ve/veya seroloji ile bruselloz tanısı alan 32 hastada Brusella DNA'sını araştırmışlardır. Lökosit pelletinin iki defa yerine dört/beş kez yıkanmasının agaroz jel elektroforezinde DNA'yı saptamayı kolaylaştırdığı, toplam DNA miktarının azalmasının da sonucu olumlu etkilediğini gözlemişlerdir. Bu yöntemle 25 sağlıklı kontrolde DNA negatif bulunmuştur (33). Bu çalışmanın sonuçlarını gören Navarro ve ark. aynı yöntemi 10 akut brusellozlu hasta ve beş sağlıklı kontrolde denemişler, fakat sonuçta sadece beş hasta ile iki kontrolde PZR pozitifliği saptamışlardır. Bu çalışmada yalancı negatifliğin nedeninin kanda bulunan bakteri DNA'sının miktarının düzeyinin saptanabilecek seviyeden daha az olması olarak belirtilirken, yalancı pozitifliğin ise konvansiyonel yöntemlerle saptanamayan asemptomatik enfeksiyona veya başka bakterilerle olan enfeksiyonun çapraz reaksiyonuna bağlı olabileceği düşünülmüştür (34).

Bizim çalışmamızda, tam kandan ayrılan lökosit pelleti serum fizyolojikle iki/üç defa yıkanarak hazırlandı. Elde ettiğimiz sonuçlara göre bu sayının ortamda bulunan hemoglobinin ve antikoagülanlar gibi yalancı negatifliğe neden olabilecek maddelerin uzaklaştırılması için yeterli olduğu görüldü.

Ülkemizdeki bir çalışmada iki farklı gen bölgesi hedeflenerek yapılan PZR'de Brusella türlerinde insersiyon bölgesinin (IS6501) çoğaltılması ile %51,7, 31 kDa 'luk B. abortus antijenini kodlayan genin 223 baz çiftlik bölgesinin çoğaltılması ile ise %48,3 duyarlılık bulunmuş, duyarlılık oranının düşük

bulunmasını hastalığın patogeneziyle ilgili olduğu ve periferik kan hücrelerinde saptanma oranının düşük olabileceği belirtilmiştir (35).

PZR çalışmalarında daha ideali bulmak adına yeni yöntem arayışları da devam etmektedir. Vroni ve ark., akut bruselloz tanısında bir enzim immuno assay PZR (PCR-EIA) gibi daha yeni bir yöntemle yaptıkları çalışmada tam kanda %81,5, serumda %79 duyarlılık, her iki materyalde de %100 özgüllük gibi ümit verici sonuçlar elde etmişlerdir (36).

Real time PZR (RT-PZR) hızlı, kapalı sistemlerde çalışıldığından kontaminasyon riski düşük ve kullanılan DNA miktarının daha az olduğu bir PZR yöntemidir. RT-PZR yönteminde reaksiyon boyunca veri toplanması ve analizi aynı anda devam etmektedir ve yarım saat kadar kısa bir sürede serum, kan ve doku örneklerinde uygulanabilmektedir (21, 36).

Debeaumont ve ark.'nın yaptığı çalışmada 17 kültür pozitif bruselloz hastasının 11'inde RT-PZR yöntemi ile Brusella DNA'sı saptanırken, 60 kontrol hastasının ise hepsi negatif bulunmuştur. Bu sonuçlara göre testin duyarlılığı %64,7, özgüllüğü %100 olarak bildirilmiştir (37).

Queipo Ortuno ve ark.'nın 60 bruselloz hastası ve 65 kontrolden alınan serum örneklerinde Eş Zamanlı PCR (qRT-PZR, Roche Diagnostic) yöntemi ile yaptıkları çalışmada duyarlılık %91,9, özgüllük %95,4 bulunmuştur. Bu yöntemin hem hızlı sonuç verdiği, hem bir bakteri hücresine denk gelen 5 fg DNA'yı saptayabildiği, hem de kapalı kapiller tüplerde çalışıldığından dolayı, kontaminasyonun engellendiği belirtilmiştir (38). Yine aynı araştırmacıların qRT-PCR ile PZR-ELISA yöntemini karşılaştırdıkları başka bir çalışmada; qRT-PCR %93,3 duyarlı, %94,6 özgül bulunurken, PZR-ELISA %90 duyarlı, %91,9 özgül bulunmuştur. Sonuç olarak serum örneklerinde çalışılan qRT-PCR yönteminin tam kan kullanılan PZR-ELISA kadar duyarlı olduğu bildirilmiştir (39). Bu yöntemle yapılacak çalışmalarda serumun da kullanılabilmesi belirtilmiştir. Bu nedenle serum kullanılarak yeni çalışmalar yapılması uygulama kolaylığı da getirecektir.

PZR yönteminin Bruselloz tedavisine yanıtta kullanılabilirliğini araştıran çalışmalar da yapılmıştır. Navarro ve ark. yaptığı bir çalışmada Bruselloz tanısı olan 18 hastadan relaps olan yedi hasta ve relaps olmayan 11 hastanın qRTPCR sonuçları karşılaştırıldığında DNA yükü ilk üç haftada hızlıca azalmasına rağmen tedavini sonunda relaps olanlarla olmayanların Q-PZR sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. (12) Başka bir çalışmada ise 30 hastanın tanı anında, tedavi bitiminde ve tedavi bittikten sonraki 2., 4. ve 6. aylarda seroloji, kültür ve PZR yöntemleri karşılaştırılmış; başlangıçta PZR testi pozitif olan 29 hastadan 28'inin tedavi sonunda PZRsi negatif bulunurken relaps olan iki hasta ve relaps şüphesi olan dört hastanın PZR testleri daha sonra pozitif

bulunmuştur. PZR yönteminin sadece tanı için değil, tedavi takibi ve relapsları erken saptamak için çok faydalı bir yöntem olduğu belirtilmiştir (40).

Sonuç olarak; Brusellozun endemik olduğu ülkemizde geleneksel olarak kullanılan serolojik yöntemlerin hastalığın erken döneminde, kronik ve relaps olgularda ve tedaviye cevabın takibinde sorun yarattığı bilinmektedir. Tanıda altın standart olarak kullanılan kültürün, duyarlılığı düşük ve uzun sürede sonuç alınabilen bir yöntem olması nedeniyle, PZR yönteminin daha kısa sürede sonuç verebilmesi, duyarlılığının ve özgüllüğünün yüksek olması, diğer yöntemlere göre laboratuvar personeline bulaş riskinin düşük olması nedenleriyle, brusellozun tanısında iyi bir alternatif seçeneği oluşturacağını düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Young EJ, Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005; 2669-73.
2. Sözen TH. Bruselloz. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Ed: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. Nobel Tıp Kitabevleri, 2002; 636-42.
3. Mehmet Uluğ, Nuray Can-Uluğ. Brusellozlu 78 Olgunun Değerlendirilmesi. Klimik Dergisi, 2010; 23(3): 89-94.
4. Kılıç S, Babür C. Biyolojik silah olarak bakteriler "Kategori B ajanlar". Türk Hij Den Biyol Derg 2006; 63: 47-66.
5. Al Dahouk S, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D. Laboratory-based diagnosis of brucellosis—a review of the literature. Part I: Techniques for direct detection and identification. Clin Lab, 2003; 49: 487-505.
6. Kılıç S. Mikrobiyolojik Tanı. Türkiye Klinikleri J Inf Dis-Special Topics, 2012; 5 (1): 46-66.
7. Kılıç S, Çelebi B, Bayram Y, Çitil B. *Francisella tularensis* antikortarı ile çapraz reaksiyonlarının araştırılması. Turk Hij Den Biyol Derg, 2013; 70(2): 65-70.
8. Kocabeyoğlu Ö. *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Yersinia enterocolitica*. Serotip 0:3 ve 0:9 Arasındaki Antijenik İlişkinin Araştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni, 1990; 24(3): 218-25.
9. Aktas. O. Brusellozda Mikrobiyolojik Tanı. ANKEM Derg, 2003; 17: 336-39.
10. Al Dahouk S, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D. Laboratory-based diagnosis of brucellosis-A Review of literature. Part 2: Serological Tests for brucellosis. Clin Lab, 2003; 49: 577-89.
11. Navarro E, Casao MA, Solera J. 2004. Diagnosis of human brucellosis using PCR. Expert Rev Mol Diagn, 4(1): 115-23.
12. Navarro E, Segura JC, Castaño MJ, Solera J. Use of Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction to Monitor the Evolution of *Brucella melitensis* DNA Load During Therapy and Post-Therapy Follow-Up in Patients with Brucellosis. Clin Infect Dis, 2006; 42 (9): 1266-73.
13. Erdenliç S. Türkiye'de Brucella kökenleri. Klimik Derg, 2003; 16: 214-6.
14. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi. 4. Baskı. İzmir, 2000; 475-80.
15. Fındık D. Bruselloz tanısında sorunlar. Klimik Kongre kitabı. 2005: 104-7.
16. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi. 4. Baskı. İzmir, 2000; 227-8.

17. Badur S. Brusellozda Serolojik Tanı ve Seroepidemioloji. *Klimik Derg*, 1990; 3: 1-1720.
18. Baily GG, Kranhn JB, Drasar BS, Stoker NG. Detection of melitensis and abortus by DNA amplification. *J Trop Med Hyg*, 1992; 95: 271-7.
19. Ariza J, Pellicer T, Pallares R, Foz A, Gudiol F. Specific antibody profile in human brucellosis. *Clin Infect Dis*, 1992; 14(1): 131-40.
20. Yüce A, Alp-Çavuş S. Türkiye’de bruselloz: Genel bakış. *Klimik Derg*, 2006; 19(3): 87-9.
21. Apan TZ, Kaygusuz S, Kılıç D, Yıldırım A, Aksoy A, Ayaşlıoğlu E. Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Polikliniklerine Başvuran Kişilerde Bruselloz Seroprevalansı. *İnfeksiyon Derg*, 2004; 18(2): 175-8.
22. Yu WL, Nielsen K. Review of detection of *Brucella* spp. by polymerase chain reaction. *Croat Med J*. 2010; 51(4): 306-13.
23. Fekete A, Bantle JA, Halling SM, Sanborn MR. Preliminary development of a diagnostic test for using polymerase chain reaction. *J Appl Bacteriol*, 1990; 69: 216-27.
24. Herman L, De Ridder H. Identification of *Brucella* spp. By using the polymerase chain reaction. *Appl Environ Microbiol*, 1992; 6: 2099-101.
25. Romero C, Gamazo C, Pardo M, Lopez-Goni I. Specific detection of DNA by PCR. *J Clin Microbiol*, 1995; 33: 615-7.
26. Navarro E, Escribano J, Fernandez J, Solera J. Comparison of three different PCR methods for detection of spp. in human blood samples. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2002; 34(2): 147-51.
27. Nimri LF. Diagnosis of recent and relapsed cases of human brucellosis by PCR assay. *BMC Infect Dis*, 2003; 3: 5.
28. Queipo-Ortuno MI, Morata P, Ocon P, Manchado P, Colmenero JD. Rapid diagnosis of human brucellosis by peripheral-blood PCR assay. *J Clin Microbiol*, 1997; 35: 2927-30.
29. Matar GM, Khneisser IA, Abdelnoor AM. Rapid laboratory confirmation of human brucellosis by PCR analysis of a target sequence on the 31-kilodalton antigen DNA. *J Clin Microbiol*, 1996; 34: 477-8.
30. Casanas MC, Queipo-Ortuno MI, Rodriguez-Torres A, Orduna A, Colmenero JD, Morata P. Specificity of a polymerase chain reaction assay of a target sequence on the 31-kilodalton *Brucella* antigen DNA used to diagnose human brucellosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2001; 20: 127-31.
31. Mitka S, Anetakis C, Souliou E, Diza E, Kansouzidou A. Evaluation of different PCR assays for early detection of acute and relapsing brucellosis in humans in comparison with conventional methods *J Clin Microbiol*, 2007; 45(4): 1211-8.
32. Al-Nakkas A, Mustafa AS, Wright SG. Large-scale evaluation of a single-tube nested PCR for the laboratory diagnosis of human brucellosis in Kuwait. *J Med Microbiol*, 2005; 54(8): 727-30.
33. Morata P, Queipo-Ortuno MI, Colmenero JD. Strategy for optimizing DNA amplification in a peripheral blood PCR assay used for diagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol*, 1998; 36: 2243-6.
34. Navarro E, Escribano, J, Solera, J. PCR assay for diagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol*, 1999; 37(5): 1654-5.
35. Çırak MY, Hızal K. Brusellozisin tanısında iki farklı gen bölgesini hedefleyen polimeraz zincir reaksiyonu yöntemlerinin değeri. *Mikrobiyol Bul*, 2002; 36: 271-6.
36. Vrioni G, Gartzonika C, Kostoula A, Boboyianni C, Papadopoulou C, Levidiotou S. Application of a polymerase chain reaction enzyme immunoassay in peripheral whole blood and serum specimens for diagnosis of acute human brucellosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2004; 23(3): 194-9.
37. Debeaumont C, Falconnet PA, Maurin M Real-time PCR for detection of *Brucella* spp. DNA in human serum samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2005; 24(12): 842-5.
38. Queipo-Ortuno MI, Colmenero JD, Reguera JM, Garcia-Ordonez MA, Pachon ME, Gonzalez M, Morata P. Rapid diagnosis of human brucellosis by SYBR Green I-based real-time PCR assay and meltingcurve analysis in serum samples. *Clin Microbiol Infect*, 2005; 11(9): 713-8.
39. Queipo-Ortuno MI, Colmenero JD, Baeza G, Morata P. Comparison between LightCycler real-time polymerase chain reaction (PCR) assay with serum and PCR-enzyme-linked immunosorbent assay with wholeblood samples for the diagnosis of human brucellosis. *Clin Infect Dis*, 2005; 40: 260-4.
40. Morata P, Queipo-Ortuño MI, Reguera JM, García-Ordoñez MA, Pichardo C, Colmenero JD. Posttreatment Follow-Up of Brucellosis by PCR Assay. *J Clin Microbiol*, 1999; 37(12): 4163-6.

# *Staphylococcus aureus* suşlarında koagulaz testi için uygun sıcaklığın araştırılması

## Investigation of optimum temperature for coagulase test in *Staphylococcus aureus* strains

Birgül KAÇMAZ<sup>1</sup>, Serdar GÜL<sup>1</sup>, Doğan Barış ÖZTÜRK<sup>2</sup>, Emine ECEMİŞ<sup>1</sup>

### ÖZET

**Amaç:** Mikrobiyoloji laboratuvarında etüvün ısısı önemlidir. Bakterilerin üretilmesinde ve antimikrobiyal duyarlılığının saptanmasında genellikle önerilen etüv ısısı 35±2 °C'dir. Bununla birlikte *Staphylococcus aureus* suşlarında doğru bir şekilde metisilin direncinin saptanmasında 35 °C'nin üzerinde etüv ısısının uygun olmadığı, 35 °C'de metisilin direncinin doğru saptanamayacağı bilinmektedir. *S. aureus*'un tanımlanmasında kullanılan tüp koagulaz testinin yapılmasında önerilen etüv ısısı farklı kaynaklarda 35 °C, 37 °C ve 35 °C - 37 °C olarak belirtilmiştir. Bu çalışmada *S. aureus* suşlarında tüp koagulaz testi için en uygun etüv ısısı araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Bu çalışma hastanemiz Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapılmıştır. Bakterilerin tanımlanmasında VITEK 2 otomatize sistem kullanılmıştır. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 110 *S. aureus* suşu çalışmaya dahil edilmiştir. Tüp koagülaz testi için tavşan plazması kullanılmış, test üretici firma önerileri doğrultusunda yapılmıştır. Her bakteri için iki ayrı koagulaz tüpü hazırlanmış, tüpler ayrı ayrı 35 °C ve 37 °C'ye ayarlanmış iki farklı etüvde inkübe edilmiştir. Birinci, ikinci, üçüncü, dördüncü ve 24. saatin sonunda tüpler pıhtı oluşumu için değerlendirilmiştir. Sonuçlar üç grupta değerlendirilmiştir.

Grup 1: Pıhtı oluşumu gözlenmeyen

Grup 2: Zayıf pıhtı oluşumu gözlenen

Grup 3: Güçlü pıhtı oluşumu gözlenen

Verilerin analizi için SPSS 15.0 programı ve grupların karşılaştırılması için de McNemar Bowker testi kullanılmıştır.

### ABSTRACT

**Objective:** Temperature of the incubator is important in microbiology laboratories. The recommended temperature is generally 35±2 °C for the detection of growing and antimicrobial susceptibility of bacteria. Nevertheless it is known that temperature over 35 °C is inappropriate for detecting methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. In different references, the optimum temperature for tube coagulase test used for differentiating *S. aureus* from other staphylococci is recommended as 35 °C, 37 °C, and 35 °C - 37 °C. In this study it was aimed to investigate the most appropriate incubator temperature for tube coagulase test in *S. aureus* strains.

**Methods:** The study was conducted in Infectious Diseases Laboratory of our hospital. VITEK 2 automated system was used for identification of bacteria. Totally 110 *S. aureus* strains isolated from various clinical samples were included in the study. Rabbit plasma was used for tube coagulase test and the test was performed according to the manufacturer's instructions. Two identical sets of tubes were prepared for each strain and each tube was incubated at 35 °C and 37 °C in different incubators. All the tubes were read at the end of first, second, third, fourth and 24th hour for clot formation. Results were evaluated in three groups.

Group 1: No clot formation

Group 2: Weak clot formation

Group 3: Strong clot formation

SPSS 15.0 program was used for data analysis and McNemar Bowker test was used for comparing groups.

<sup>1</sup> Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, KIRIKKALE

<sup>2</sup> Ulucanlar Göz Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Serdar GÜL

Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hast. ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, KIRIKKALE

Tel : +90 505 925 51 44

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

Geliş Tarihi / Received : 04.12.2014

Kabul Tarihi / Accepted : 25.02.2015

**Bulgular:** Suşların hepsi her iki etüv derecesinde de test süresince pıhtı oluşturmuştur. Bakterilerin zamana göre 35 °C ve 37 °C’de pıhtı oluşturma durumları değerlendirilmiştir. Sonuçların karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel değerlendirmede inkubasyon sıcaklıkları ve gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

**Sonuç:** Çalışmanın sonuçlarına dayanarak hem 35 °C ve hem de 37 °C’nin *S. aureus* suşlarında koagulaz saptanmasında uygun olduğu bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Staphylococcus aureus*, tüp koagulaz test, sıcaklık

**Results:** All of the strains had clot formation at both of the incubator temperatures during test period. The clot formation degree of strains were examined at 35 °C and 37 °C according to time. The statistical analysis showed no significant differences between incubation temperatures and groups.

**Conclusion:** According to the results obtained in this study, both 35 °C and 37 °C was found appropriate for determining coagulase positivity in *S. aureus*.

**Key Words:** *Staphylococcus aureus*, tube coagulase test, temperature

## GİRİŞ

Koagulaz testi *Staphylococcus aureus*’u diğer stafilokok türlerinden ayırmada kullanılan önemli ve uygulaması kolay bir yöntemdir. Stafilokok olduğu düşünülen, Gram boyamasında gram olumlu koklar saptanan ve katalazı pozitif olan tüm izolatlarda yapılmalıdır. Koagulaz testi, Lam testi ve tüp testi olarak iki temel yöntem ile yapılır. Lam testi ile bağlı koagulaz (kümeleştirme faktörü= clumping factor) saptanmaktadır. Bu yöntemde; bakteri yüzeyindeki kümeleştirme faktörü, plazmadaki fibrinojeni pıhtılaştırıp stafilokokların kümelenmesine neden olur. Tüp testinde ise stafilokokların besiyerine saldıkları bağımsız koagulaz araştırılır. Bu enzim niteliğindeki madde, plazmada bulunan bir faktör ile (koagulaz reaksiyon faktör) ilişki kurar ve fibrinojeni pıhtılaştırır. Tüp testinde stafilokok olduğu düşünülen kolonilerden birkaç tane alınarak tüpe konulan plazma içinde ezilerek emülsiyon haline getirilir. Tüpler 35 °C - 37 °C’lik etüve yerleştirilir, birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü saatlerde pıhtı oluşup oluşmadığına bakılır (1). Testin ilk dört saatlik uygulaması sırasında etüvün sıcaklık derecesinin farklı kaynaklarda 35 °C, 37 °C, 35 °C - 37 °C derece olarak belirtildiği gözlenmektedir (2 - 5). İlk dört saatte pıhtı gözlenmeyen tüplerde gecikmiş koagulaz aktivitesinin varlığını araştırmak için tüpün oda ısısında 24. saate kadar inkübe edilmesi gerekmektedir. Bu çalışmada *S. aureus*

tanımlamasında kullanılan koagulaz testi için en uygun etüv sıcaklığının araştırılması amaçlanmış, 35 °C ve 37 °C arasında fark olup olmadığı değerlendirilmiştir.

## GEREÇ YÖNTEM

Çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen VITEK 2 (bioMerieux, St. Louis, Missouri, USA) otomatize sistem ile metisilin duyarlı *S. aureus* (MSSA) olarak tanımlanan 110 suş çalışmaya alınmıştır. Bakterilerin koagulaz aktivitelerinin saptanmasında tavşan plazması (BD Diagnostic Systems, Sparks, MD) kullanılmıştır. Çalışmaya dahil edilen bakteri izolatlarının koyun kanlı agar besiyerine tek koloni pasajları yapılmıştır. Takiben 35 °C - 37 °C’de kalibre edilmiş etüvlerde 18 saat inkübe edilmişlerdir. Test sırasında steril vida kapaklı cam tüplere, ticari firmanın önerileri doğrultusunda sulandırılmış tavşan plazmasından 0,5’er ml dağıtılmıştır. Teste alınan her bir bakteri izolatu için plazma içeren iki ayrı tüp kullanılmıştır. Taze pasajı yapılan bakteri izolatlarının herbirinden 3-5 koloni alınıp içinde tavşan plazması bulunan farklı test tüplerine aktarılmıştır. Tüplerin biri 35 °C’de diğeri ise 37 °C’de inkübe edilmiştir. Tüpler, pıhtı oluşumu açısından birinci, ikinci, üçüncü, dördüncü ve 24. saatlerin sonunda incelenmiştir.



Test sonuçlarının değerlendirilmesi ve yorumlanmasında; üç temel grup dikkate alınmıştır.

Grup 1: Pıhtı oluşumu saptanmayan,

Grup 2: Zayıf pıhtı oluşumu saptanan,

Grup 3: Güçlü pıhtı oluşumu saptanan,

Çalışmada *S. aureus* ATCC 25923 suşu pozitif, *S. epidermidis* ATCC 12228 suşu da negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

Grupların karşılaştırmasında McNemar-Bowker testi kullanılmıştır.  $p < 0,05$  değeri anlamlı kabul edilmiştir.

## SONUÇLAR

Tüpler birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü saatin sonunda farklı sıcaklık derecelerine ayarlanmış etüvlerden çıkarılmış ve pıhtı oluşumu açısından değerlendirilmiştir. *S. aureus* suşlarında geç koagülaz aktivitesi gözlenebileceği için henüz tanımlanmamış ancak stafilkok olduğu düşünülen, ilk dört saatte koagülaz negatif olan suşlarda gecikmiş koagülaz aktivitesinin araştırılması gereklidir. Bu nedenle

**Tablo 1.** Bakterilerin birinci saatte 35 °C ve 37 °C'de pıhtı oluşturma durumları

		37 °C			Toplam
		Grup 1	Grup 2	Grup 3	
35 °C	Grup 1	86	3	1	90
	Grup 2	3	15	2	20
	Grup 3	0	0	0	0
Toplam		89	18	3	110

**Tablo 3.** Bakterilerin üçüncü saatte 35 °C ve 37 °C'de pıhtı oluşturma durumları

		37 °C			Toplam
		Grup 1	Grup 2	Grup 3	
35 °C	Grup 1	6	2	0	8
	Grup 2	5	14	9	28
	Grup 3	1	6	67	74
Toplam		12	22	76	110

P= 0.410

dördüncü saatin sonunda pıhtı oluşumu gözlenmeyen tüpler etüvden çıkarılarak oda ısısında bekletilmiş, 24. saatin sonunda değerlendirilmeye alınmıştır. Suşların hepsinde pıhtı oluşumu farklı zamanlarda (birinci, ikinci, üçüncü, dördüncü ve 24. saatin sonunda) gözlenmiştir.

Bakterilerin belirlenen saatlerin sonunda 35 °C ve 37 °C'deki pıhtı oluşturma durumları Tablo 1, 2, 3 ve 4'te verilmiştir. Sonuçların karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel değerlendirmede birinci saat dışındaki inkubasyon sıcaklıkları ve gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Birinci saatte 35 °C'de grup 3 olarak değerlendirilecek suş olmadığı için istatistik uygulanamamıştır.

## TARTIŞMA

Mikrobiyoloji laboratuvarında bakterilerin üretilmesi ve antimikrobiyal duyarlılıklarının saptanması sırasında kullanılan etüvün ısı önemli bir faktördür. Önerilen etüv ısı derecesi  $35 \pm 2$  °C olmasına rağmen stafilkoklarda metisilin direncinin

**Tablo 2.** Bakterilerin ikinci saatte 35 °C ve 37 °C'de pıhtı oluşturma durumları

		37 °C			Toplam
		Grup 1	Grup 2	Grup 3	
35 °C	Grup 1	18	9	1	28
	Grup 2	12	21	6	39
	Grup 3	3	9	31	43
Toplam		33	39	38	110

P= 0.566

**Tablo 4.** Bakterilerin dördüncü saatte 35 °C ve 37 °C'de pıhtı oluşturma durumları

		37 °C			Toplam
		Grup 1	Grup 2	Grup 3	
35 °C	Grup 1	4	1	0	5
	Grup 2	1	16	4	21
	Grup 3	2	13	69	84
Toplam		7	30	73	110

P= 0.080

35 °C'de saptanabileceği, bu derecenin üzerindeki ısıda metisilin direncinin saptanamayacağı bilinmektedir (6, 7). Buna benzer olarak *Neisseria gonorrhoeae*'de de doğru antibiyotik duyarlılığının saptanmasında önerilen etüv ısı 36 ± 1 °C olmalı, 37 °C'yi aşmamalıdır (7).

*S. aureus*'ta koagülaz saptanmasında ise yapılan çalışmalarda etüv ısı 35 °C veya 37 °C olacak şekilde kullanılmıştır. *S. aureus*'ta koagülaz saptanmasında etüv ısı Manual of Clinical Microbiology kitabında 37 °C, Bailey ve Scott's Diagnostic Microbiology kitabında ise 35 °C olarak yazılmıştır (3, 4). Tavşan plazmasını üreten üretici firmanın kullanım kılavuzunda tüplerin 35 °C - 37 °C'de inkübe edilebileceği belirtilmiştir. Bu iki ısıda koagülaz oluşumu için bir farklılık olup olmadığı bilinmemektedir. Bu konuda literatürde herhangi

bir bilgiye rastlanmamıştır. Yapılan çalışmalarda her iki ısı derecesi de kullanılmıştır (8 - 11).

Metisilin dirençli suşlarda lam koagülaz aktivitesinin zayıfladığı bilinmektedir. Bu suşlarda tüp koagülaz testinin etkilendiğine dair bir veri bulunmamaktadır (12, 13). Bu çalışmada sadece MSSA suşları kullanılmış, bu suşların koagülaz oluşumu 35 °C ve 37 °C'ye ayarlanmış iki farklı etüvde değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına bakıldığında iki etüv ısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bakterinin tüp koagülaz testinde değerlendirilmesinde etüv ısısının 35 °C ve/veya 37 °C olmasının koagülaz oluşumu üzerine bir etkisi olmadığı görülmüştür. Her iki ısının da *S. aureus* suşlarında koagülaz testinde kullanılabileceği belirlenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Coagulase test. National Standart Method, Standards Unit, Department for Evaluations, Standards and Training, 2010; 6-11.
2. Kateete DP, Kimani CN, Katabazi FA, Okeng A, Okee MS, Nanteza A, et al. Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2010; 9(1): 23-30.
3. Kloos WE, Bannerman TL. Staphylococcus and Micrococcus. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenoer FC, Tenover RH eds. Manual of Clinical Microbiology. 7th edition. Washington, ASM press, 2005: 264-82.
4. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. Twelfth edition. St. Louis: Mosby Elsevier, 2007.
5. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 5. Baskı. İzmir: Barış Yayınları Tıp Fakülteleri Kitabevi, 2009.
6. Thornsberry C, Caruthers JQ, Baker CN. Effect of temperature on the in vitro susceptibility of *Staphylococcus aureus* to penicillinase-resistant penicillins. Antimicrob Agents Chemother, 1973; 4 (3): 263-9.
7. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. M100-S23, CLSI, Wayne, PA, (2013).
8. Rubin JE, Bayly MK, Chirino-Trejo M. Comparison of dog and rabbit plasmas in the tube coagulase test for *Staphylococcus aureus*. J Vet Diagn Invest, 2010; 22(5): 770-1.
9. Carretto E, Bardaro, Russello G, Mirra M, Zuelli C, Barbarini D. Comparison of the Staphylococcus Quick FISH BC Test with the Tube Coagulase Test Performed on Positive Blood Cultures for Evaluation and Application in a Clinical Routine Setting. J Clin Microbiol, 2013; 51(1): 131-5.
10. Cooke RPD, Jenkins CT. Comparison of commercial slide agglutination kits with a tube coagulase test for the rapid identification of *Staphylococcus aureus* from blood culture. J Clin Pathol, 1997; 50(2): 164-6.
11. Gültaş N, Bayrakal V, Bahar İ. H. Gentamisin Etkisi Altındaki *Staphylococcus aureus* Suşlarının Biyofilm ve Koagülaz Yanıtları ile Mikroçevre İlişkisinin Değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul, 2013; 47(1): 19-26.
12. Roberts J, Gaston MA. Protein A and coagulase expression in epidemic and non-epidemic *Staphylococcus aureus*. J Clin Pathol, 1987; 40(8): 837-40.
13. Dickson JI, Marples RR. Coagulase production by strains of *Staphylococcus aureus* of differing resistance characters: a comparison of two traditional methods with a latex agglutination system detecting both clumping factor and protein A. J Clin Pathol, 1986; 39(4): 371-5.

## Anti-dsDNA antikorlarının saptanmasında üç ELISA yönteminin CLIF testiyle karşılaştırılması

### Comparison of three ELISA methods with CLIF test for detection of anti-dsDNA antibody

Feyza ÇETİN<sup>1</sup>, Alparslan TOYRAN<sup>1</sup>, Özlem AYTAÇ<sup>1</sup>, Feride ALACA-COŞKUN<sup>1</sup>,  
İpek MUMCUOĞLU<sup>1</sup>, Feyza ALP<sup>1</sup>, Altan AKSOY<sup>1</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Sistemik lupus eritematozus (SLE) hücre çekirdeğindeki antijenlere karşı antikorların oluşturduğu otoimmün bir hastalıktır. Amerikan Romatoloji Derneği (ACR) kriterlerine göre SLE tanısında kullanılan immünolojik parametreler anti nükleer antikor (ANA) ve anti-dsDNA otoantikorlarıdır. Bu çalışmada anti-dsDNA antikorlarının saptanmasında, CLIF yöntemi referans yöntem kabul edilerek, üç farklı ELISA kitinin özgülüğünün araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Çalışmaya 1 Mayıs - 31 Temmuz 2013 tarihleri arasında hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen klinik olarak SLE tanısı almış olan 81 hastanın serum örnekleri dahil edilmiştir. Bu serumlarda ANA varlığı öncelikle immüno Floresan antikor (IFA) yöntemiyle araştırılmıştır. Pozitif serum örnekleri -80 °C'de prospektif analiz için saklanmış ve aynı gün dört farklı anti-dsDNA testi ile çalışılmıştır. Bu testler; üç adet anti-dsDNA ELISA kiti; CHORUS dsDNA-G (DIESSE Diagnostica Senese, İtalya), Anti-dsDNA-Ncx ELISA IgG (EUROİMMUN, Almanya), QUANTA Lite dsDNA SC ELISA (INOVA Diagnostics, Kaliforniya) ve CLIF testi (Crithidia luciliae anti-dsDNA, EUROİMMUN, Almanya) idi.

**Bulgular:** Hastaların IFA yöntemi ile ANA paternleri; %35,8 homojen patern, %22,2 homojen+diğer patern, %24,7 granüler patern, %8,7 granüler + diğer paternler, %7,4 nükleolar patern ve %1,2 sentromer patern olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre SLE hastalarında en

#### ABSTRACT

**Objective:** Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease caused by antibodies which produced against antigens commonly on cell nuclei. According to the criteria of American College of Rheumatology (ACR), the immunological parameters which are used for diagnosis of SLE, are anti- nuclear antibodies (ANA) and anti- dsDNA autoantibodies. In this study it is aimed to investigate the specificity of three different ELISA tests by comparing with CLIF test, as a reference method, for the determination of anti-dsDNA antibodies.

**Methods:** Sera of 81 patients who were diagnosed as SLE and sent to the Microbiology Department of our hospital between 1 May - 31 July 2013, were included in the study. In these sera, ANA positivity was firstly investigated by immunofluorescence antibody test (IFA). Positive sera were stored at -80 °C for prospective analysis and processed with four different anti-dsDNA assays at the same day. These assays were three anti-dsDNA ELISA kits including; CHORUS dsDNA-G (DIESSE Diagnostica Senese, Italy), anti-dsDNA-Ncx ELISA IgG (EUROİMMUN, Germany, California), QUANTA Lite dsDNA SC ELISA (INOVA Diagnostics) and CLIF test (Crithidia luciliae anti-dsDNA, EUROİMMUN, Germany).

**Results:** ANA patterns of patients defined by IFA were determined as; 35.8% homogeneous pattern, 22.2% homogeneous and other patterns, 24.7% granular pattern, 8.7% granular and other patterns, 7.4% nucleolar pattern and 1.2% centromere pattern.

<sup>1</sup> Ankara Numune Eğitim Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Özlem AYTAÇ

Ankara Numune Eğitim Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, ANKARA

Tel : +090 506 388 93 45

E-posta / E-mail : ozlemozlem5@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 03.06.2014

Kabul Tarihi / Accepted : 22.12.2014

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.88393

Çetin F, Toyran A, Aytaç Ö, Alaca-Coşkun F, Mumcuoğlu İ, Alp F, Aksoy A. Anti-dsDNA antikorlarının saptanmasında üç ELISA yönteminin CLIF testiyle karşılaştırılması. Turk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(2): 103-8.

sık rastlanan ANA paterni homojen patern olmuştur. Çalışılan 81 serum örneğinin anti-dsDNA pozitiflikleri; CLIF yöntemi ile 22 (%27), INOVA ile 46 (%56), EUROIMMUN ile 34 (%41), CHORUS ile 50 (%61) saptanmıştır. CLIF referans yöntem kabul edildiğinde ELISA kitlerinin özgüllükleri ve pozitif prediktif değerleri (PPD) sırasıyla; CHORUS ile %50, %42; INOVA ile %54, %41; EUROIMMUN ile %71, %50'dir.

**Sonuç:** ANA pozitif olgularda incelenen yöntemler içinde Anti-dsDNA-NcX ELISA IgG yöntemi diğer yöntemlere göre daha yüksek özgüllük ve PPD'e sahiptir. Bu çalışmanın CLIF yöntemi kullanılmadığında seçilecek ELISA yöntemi açısından laboratuvarlara yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Sistemik lupus eritematozus, SLE, anti-dsDNA, CLIF, ELISA

According to these results, most common ANA pattern in SLE patients was found as homogeneous pattern. Anti-dsDNA positiveness of 81 sera samples were 22 (27%) with CLIF test, 46 (56%) with INOVA, 34 (41%) with EUROIMMUN and 50 (61%) with CHORUS. When CLIF test was considered as reference method, specificity, and positive predictive value (PPV) of ELISA kits were respectively; 50%, 42% for CHORUS; 54%, 41% for INOVA and 71%, 50% for EUROIMMUN.

**Conclusion:** Anti-ds DNA-NcX IgG ELISA method had higher specificity and PPV than other tested methods in ANA positive cases. It is thought that this study may guide the laboratories to choose ELISA method in lack of CLIF method.

**Key Words:** Systemic lupus erythematozus, SLE, anti-dsDNA, CLIF, ELISA

## GİRİŞ

Sistemik lupus eritematozus (SLE) sıklıkla hücre çekirdeğindeki antijenlere karşı antikolların oluşturduğu otoimmün bir hastalıktır (1). SLE tanısında kullanılan Amerikan Romatoloji Derneği (ACR) kriterlerinde anti-dsDNA, anti-Sm, anti nükleer antikor (ANA) pozitifliği gibi çeşitli otoantikolar yer alır (2, 3).

Hücre çekirdeğine karşı gelişen her antikora anti nükleer antikor (ANA) denir (1). Anti nükleer antikor (ANA) pozitif olan her hasta SLE değilken, SLE tanılı hastaların çoğunda (%95) ANA pozitifliği vardır (1, 4). Anti nükleer antikor (ANA) tespitinde yaygın olarak kullanılan test kemirgen karaciğeri veya insan epitelyal hücrelerinin (HEP2) kullanıldığı İmmunfloresan antikor testi (IFA) iken Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) testleri de kullanılan testler arasındadır. Anti nükleer antikor (ANA), SLE için oldukça duyarlı olmasına rağmen yaşlı bireylerde de ANA pozitifliği görülebilir. Bu nedenle ANA'nın özellikle seçilmemiş bir popülasyonda veya düşük titrelerdeki pozitifliklerde SLE için pozitif prediktif değeri (PPD) düşüktür ve tanı koydurucu değildir (5 - 7).

SLE tanısında kullanılan başka bir parametre de anti-dsDNA antikorudur. SLE tanılı hastalarda anti-dsDNA pozitifliği %30 - %70 arasında değişkenlik

göstermektedir (1). Anti-dsDNA antikoları SLE tanısı için en sık kullanılan otoantikordur (8). Sistemik lupus eritematozus (SLE) tanısı ve hastalığın aktivasyonunu belirlemede kullanılan önemli serolojik belirteç olarak değerlendirilir (9, 10). Epstein-Barr virüs, hepatit B virüs enfeksiyonu, ilaç kullanımı (hidralazin, TNF inhibitörleri, interferonlar, sülfasalazin) gibi durumlarda anti-dsDNA titreleri yüksek olabilir (11). Bu nedenle SLE tanısı konulurken bu etkenler göz önünde bulundurulmalıdır.

Bu antikor ELISA, Farr radioimmunoassay (Farr RIA), *Crithidia luciliae* immünfloresan (CLIF) testi gibi üç farklı sistemden biri kullanılarak tespit edilir (10). Bu testler arasında duyarlılık ve özgüllük açısından büyük farklar mevcuttur ve özellikle de anti-dsDNA ELISA'nın farklı ticari kitleri arasında bu fark belirgindir (11). ELISA testi ile çalışılan anti-dsDNA sonuçları IgG spesifik CLIF veya Farr RIA yöntemleri ile doğrulanmalıdır (12, 13).

Bu çalışmada ACR kriterlerine göre klinik olarak SLE tanısı almış hastalarda anti-dsDNA antikollarının varlığı üç farklı ticari ELISA kiti ve iki IFA yöntemi ile araştırılmıştır. *Crithidia luciliae* immünfloresan (CLIF) testi referans yöntem kabul edilerek ELISA kitlerinin özgüllüğünün saptanması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya 1 Mayıs - 31 Temmuz 2013 tarihleri arasında hastanemiz mikrobiyoloji seroloji laboratuvarına gönderilen ACR kriterlerine göre SLE tanısı almış olan 76'sı kadın, 5'i erkek toplam 81 hastanın serum örnekleri dahil edilmiştir. Amerikan Romatoloji Derneği (ACR) kriterleri ilk kez 1982'de tanımlanmış olup 1997'de güncellenmiştir. Bu kriterler; malar rash, diskoid rash, fotosensitivite, oral ülser, artrit, serozit, renal hastalık, nörolojik hastalık, hematolojik hastalık, immünolojik hastalık (anti-DNA, anti-Sm) ve ANA pozitifliği olarak belirlenmiştir. Buna göre bir hastanın SLE tanısı alması için 11 ACR kriterinden en az 4'ü açısından pozitif olması gerekmektedir. Çalışmaya dahil edilen olguların serum örnekleri tüm olgular tedavi altında iken toplanmıştır.

Sistemik lupus eritematozus tanısı almış hastalarda IFA testi ile ANA varlığının araştırılması için standart IFA testi kullanılmıştır (IFFT Mosaic: Hep-20-10/Liver Monkey, EUROIMMUN, Almanya). Kemirgen karaciğeri ve HEP2 hücreleri ile kaplı özel lam alanları üzerine serumların 1/100 dilüsyonları eklenerek üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır. Sonuçlar floresan mikroskopunda x20 ve x40 objektiflerle ve öncelikle araştırmanın IFA sertifikalı sorumlu asistan hekimi tarafından değerlendirilmiştir. Değerlendirmeler sonucunda bir farklılık gözlenmemiştir. Anti nükleer antikor (ANA) varlığı tespit edilen serum örnekleri üç ELISA yöntemi ve CLIF yöntemi çalışılmak üzere -80 °C'de saklanmıştır. Depolanan serumlar oda sıcaklığına geldikten sonra prospektif analiz için dört farklı anti-dsDNA test kiti ile çalışılmıştır. ELISA testleri için ticari olarak elde edilen anti-dsDNA ELISA kitleri; ELISA testi 1 (ET1) (CHORUS dsDNA-G, DIESE Diagnostica Senese, İtalya), ELISA testi 2 (ET2) (Anti-dsDNA-Ncx ELISA IgG, EUROIMMUN, Almanya), ELISA testi 3 (ET3) (QUANTA Lite dsDNA SC ELISA, INOVA diagnostics, Kaliforniya); IFA testi için yine ticari olarak elde edilen CLIF (Crithidia luciliae anti-dsDNA, EUROIMMUN, Almanya) kullanılmıştır.

İmmunofloresan antikor testi (IFA) ile anti-dsDNA araştırılmasında antijenik substrat olarak *Crithidia luciliae* içeren lamlara serum örneklerinin

1/10 dilüsyonları eklenmiş ve test üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır. Sonuçlar floresan mikroskopunda x20 ve x40 objektiflerle ve öncelikle araştırmanın IFA sertifikalı sorumlu asistan hekimi tarafından değerlendirilmiş, daha sonra araştırmanın IFA sertifikalı yürütücüsü uzman hekim ve sorumlu öğretim üyesine danışılmıştır. Değerlendiriciler arasında sonuçlar açısından farklılık gözlenmemiştir.

Çalışılan üç ELISA yöntemi; ET1, ET2 ve ET3, dsDNA'ya karşı oluşan antikorlardan IgG sınıfına ait antikorları saptamış ve kalitatif değerlendirme yapılmıştır. ET1 ile çalışılan serumlar dilüe edilmezken, ET2 ile çalışılan serumlar buffer solüsyon ile 1/200 oranında, ET3 ile çalışılan serumlar dilüsyon solüsyonu ile 1/100 oranında dilüsyon yapılarak üretici firmaların talimatları doğrultusunda çalışılmıştır.

## BULGULAR

Sistemik lupus eritematozus (SLE) tanısı almış olan 76'sı kadın, 5'i erkek toplam 81 hastanın serum örneği çalışılmıştır. Çalışmaya alınan hastaların yaş ortalaması  $39,6 \pm 11,6$  bulunmuştur.

Çalışmaya dahil edilen 81 hastanın IFA yöntemi ile ANA paternleri değerlendirilmiştir. Hastaların immünofloresan antikor yöntemi ile ANA paternleri; %35,8 homojen patern, %22,2 homojen+diğer patern, %24,7 granüler patern, %8,7 granüler + diğer paternler, %7,4 nükleolar patern ve %1,2 sentromer patern olarak bulunmuştur (Tablo 1). Bu hastaların ANA paternlerine bakıldığında homojen patern en sık rastlanan patern olmuştur. Aynı zamanda CLIF yöntemi ile pozitif olan hastalarda da en sık homojen patern görülmüştür (Tablo 2).

Çalışılan 81 serum örneğinin anti-dsDNA pozitiflikleri; CLIF yöntemi ile 22 (%27), ET3 ile 46 (%56), ET2 ile 34 (%41), ET1 ile 50 (%61) saptanmıştır. CLIF yöntemi ile pozitif bulunan 22 serum örneğinin 21'i ET1, 19'u ET3, 17'si ET2 ile pozitif bulunmuştur (Tablo 3). CLIF yöntemi ile pozitif olan hastaların 13'ü her üç ELISA kiti, üçü ET3 ve ET1 ile biri de sadece ET1 ile pozitif tespit edilmiştir.

CLIF yöntemi referans yöntem kabul edildiğinde ELISA kitlerinin özgüllükleri; ET1 %50, ET2 %71, ET3

%54; pozitif prediktif değerleri (PPD); ET1 %42, ET2 %50, ET3 %41 olarak bulunmuştur (Tablo 3).

**Tablo 1.** SLE hastalarının IFA ANA patern dağılımı

ANA paterni	Hasta Sayısı	(%)
Homojen	29	35,8
Homojen + Granüler	12	14,8
Homojen + Nükleolar	5	6,2
Homojen+ Sentromer	1	1,2
Granuler	20	24,7
Granuler + Granüler kromozom bantlanması	2	2,5
Granuler + Nükleolar	4	5,0
Granuler +Nükleer dots	1	1,2
Nükleolar	6	7,4
Sentromer	1	1,2
<b>Toplam</b>	<b>81</b>	<b>100</b>

**Tablo 2.** CLIF yöntemi ile pozitif hastaların ANA paternleri

ANA paterni	Hasta Sayısı	(%)
Homojen	12	54,69
Homojen + Granuler	2	9,1
Homojen + Nükleolar	2	9,1
Granüler	3	13,6
Granüler + Nükleolar	2	9,1
Nükleolar	1	4,5
<b>Toplam</b>	<b>22</b>	<b>100</b>

**Tablo 3.** CLIF yönteminin üç farklı ELISA kiti ile karşılaştırılması

		CLIF	
		POZİTİF	NEGATİF
CHORUS (ET1)	POZİTİF	21	29
	NEGATİF	1	30
EUROIMMUN (ET2)	POZİTİF	17	17
	NEGATİF	5	42
INOVA (ET3)	POZİTİF	19	27
	NEGATİF	3	32

## TARTIŞMA

Anti nükleer antikor (ANA) tespiti için hala altın standart yöntem olarak kullanılan immünfloresan mikroskopunun kullanımı 1950'lilerde Holman, Kunkel ve Friou tarafından başlatılmıştır (14 - 17). Farklı ANA paternlerinin bulunması farklı nükleer antijenlere karşı antikor oluşmasına bağlıdır ve bu farklı paternler tanı koymada yardımcı olabilir (18, 19).

Daha önce yapılan bazı çalışmalarda tanı anında immünfloresan yöntemiyle ANA pozitif olan hastaların zamanla ANA pozitifliklerini büyük oranda (%24) kaybettikleri görülmüştür (20). Frodlund ve ark.'ları immünfloresan yöntemiyle ANA pozitifliğinin devam ettiği SLE tanılı hastalar arasında yaptıkları çalışmada ANA paternlerini %62 oranında homojen ± diğer patern, %10'unda sadece granüler patern olarak rapor etmişlerdir (21). Bizim çalışmamızda immünfloresan yöntemiyle ANA paterni değerlendirilen SLE tanılı hastaların %35,8'i homojen patern, %22,2'si homojen patern + diğer paternler, %24,7'si granüler patern, %8,7'si granüler + diğer paternler, %7,4'ü sadece nükleolar patern ve %1,2'si sadece sentromer patern olarak bulunmuştur. Ülkemizde SLE tanılı hastalarda ANA paterni dağılımı ile ilgili fazla çalışmaya rastlanmamıştır.

Amerikan Romatoloji Derneği (ACR)' ne göre SLE tanı kriterlerinden biri de anti-dsDNA antikorunun varlığıdır. Klinik laboratuvarlarda anti-dsDNA antikorunu saptamak için rutin uygulamalarda ELISA, Farr RIA ve CLIF yöntemlerinden biri kullanılmaktadır (22). Farr RIA ve CLIF, SLE tanısında kullanılan en yararlı yöntemlerdir (23). Yüksek duyarlılığına rağmen düşük özgüllüğünden dolayı ELISA yöntemleri ile tespit edilen anti-dsDNA IgG antikorlarının, özgüllüğü daha yüksek olan testlerle doğrulanması önerilmektedir (24). Bu nedenle anti-dsDNA IgG ELISA testi ile pozitif sonuç alınan örnekler genellikle Farr RIA veya CLIF testi ile doğrulanmaktadır (24). Farr RIA testinin anti-dsDNA'nın sadece IgG sınıfı değil tüm immünglobülin sınıflarını saptayabilmesi avantaj olsa da testte radyoaktif madde kullanılması ve otomatize edilememesi kullanımını azaltmaktadır (27). CLIF testi orta ve yüksek aviditeli izotipe özgü anti-dsDNA antikorlarını tespit edebildiği için yüksek özgüllüğe (%98-100) ve düşük duyarlılığa sahiptir

(%47-55) (25, 26). Ayrıca CLIF testi kullanımında Farr RIA' da söz konusu olan yüksek radyasyon maruziyeti riski yoktur. Bu nedenle araştırmamızda CLIF testi, özgüllüğünün hayli yüksek olması da göz önünde bulundurularak referans yöntem olarak seçilmiştir. Kullanılan CLIF testi kitinin SLE tanısı için özgüllüğü üretici firma tarafından kit prospektüsünde >%99 olarak verilmiştir.

Çalışmamızda dikkat çeken bir bulgu IFA ile ANA pozitifliği saptanan 47 hastanın sadece 22 (%46,8)'inde CLIF testi ile anti-dsDNA pozitifliği saptanmış olmasıdır. ANA pozitif SLE hastalarında CLIF testinin pozitif olma oranının ne olduğu açısından literatür incelendiğinde testin düşük duyarlılığının ve yüksek özgüllüğünün ön plana çıktığı görülmüştür (24, 28). CLIF testinin PPD'sinin araştırıldığı çok merkezli bir kohort çalışmasında yöntemin düşük duyarlılığı (%28-32) ve düşük pozitif prediktif (%46-61) değerine karşın oldukça yüksek özgüllüğe (%96-97) sahip olduğu vurgulanmıştır (28). Chiaro ve ark.'nın 300 olgu üzerinde yürüttüğü başka bir kohort çalışmasında CLIF testi diğer ELISA yöntemleriyle karşılaştırılmış, ANA pozitif hastaların ancak %68' inde CLIF testi pozitif bulunmuştur (24). Bu veriler ışığında, araştırmamızda belirlenen ANA pozitif SLE' li olgularda %46,8'lik CLIF testi pozitifliği, testin yüksek özgüllüğü ile ilişkilendirilmiştir.

ELISA testi ile çalışılan anti-dsDNA sonuçları IgG spesifik CLIF veya Farr RIA yöntemleri ile doğrulanmalıdır (12, 13). Bu çalışmada CLIF yöntemi referans yöntem kabul edilerek üç farklı ELISA kitinin özgüllük ve pozitif prediktif değerleri (PPD) karşılaştırılmıştır. CLIF testi

referans yöntem kabul edildiğinde ELISA kitlerinin özgüllük ve PPD'leri sırasıyla; CHORUS dsDNA-G ile %50, %42; QUANTA Lite dsDNA SC ELISA ile %54, %41; Anti-dsDNA-Ncx ELISA IgG ile %71'e, %50 bulunmuştur.

Rutin laboratuvarlarda immünfloresan yöntemiyle ANA testine ek olarak ELISA yöntemi kullanılmaktadır. Çalışmamız sonucunda Anti-dsDNA-Ncx ELISA IgG ELISA kiti CLIF yöntemi referans test kabul edildiğinde özgüllüğü ve PPD'si en yüksek test olarak bulunmuştur.

Çalışmamızın kontrol grubunun olmaması en önemli kısıtlılık olarak sayılabilir. Sağlıklı kontroller çalışmada yer almadığından CLIF referans testiyle karşılaştırılan ELISA testlerinin duyarlılıkları tespit edilememiş, özgüllükleri ve PPD'leri hesaplanmış ve bu açıdan karşılaştırılmışlardır. Hastaların tedavi sürecinde bulunmaları anti-dsDNA pozitifliğini etkileyebilme ihtimali de ayrı bir kısıtlılık olarak ifade edilebilir. Ancak ilk tanı alan ya da tedavisi yeni planlan olguların değil en az 2 yıl süreli tedavi alan olguların çalışmaya dahil edilmesiyle grup homojenizasyonu sağlanmaya çalışılmıştır.

Sonuç olarak; ülkemizde anti-dsDNA antikorunu saptayan yöntemleri karşılaştıran yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. İncelenen yöntemler içerisinde klinisyen tarafından SLE ön tanısıyla laboratuvara yönlendirilen ANA pozitif olgularda Anti-dsDNA-Ncx ELISA IgG yöntemi daha yüksek özgüllüğü ve daha yüksek PPD'si ile ön plana çıkmaktadır. Bu çalışma CLIF yöntemiyle çalışılmayan durumlarda hangi ELISA yönteminin kullanılmasının daha faydalı olacağı konusunda yol gösterici olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Egner W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. *J Clin Pathol*, 2000; 53 (6): 424-32.
2. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*, 1982; 25 (11): 1271-7.
3. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology Revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*, 1997 ; 40 (9): 1725.
4. Gniewek RA, Stites DP, McHugh TM, Hilton JF, Nakagawa M. Comparison of antibody testing methods: immunofluorescence assay versus enzyme immunoassay. *Clin Diag Lab Immunol*, 1997; 4 (2): 185-8.
5. Tan EM, Feltkamp TE, Smolen JS, Butcher B, Dawkins R, Fritzler MJ et al. Range of antinuclear antibodies in "healthy" individuals. *Arthritis Rheum*, 1997; 40 (9): 1601-11.
6. Juby AG, Davis P. Prevalence and disease associations of certain autoantibodies in elderly patients. *Clin Invest Med*, 1998; 21 (1): 4-11.

7. Sheil WC Jr, Jason M. Diagnostic associations of patients with antinuclear antibodies referred to community rheumatologists. *J Rheumatol*, 1989; 16 (6): 782-5.
8. Hughes R, Ul-Hassan S. Anti-dsDNA antibodies: their role in the detection and monitoring of SLE. *CLI*, 2006; 7: 12-7.
9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-dsDNA antibodies: are we approaching journey's end? *Rheumatology*, 2007; 46(7): 1052-6.
10. Hahn BH. Antibodies to DNA. *N Engl J Med*, 1998; 338(19): 1359-68.
11. Biesen R, Dahnrich C, Rosemann A, Barkhudarova F, Rose T, Jakop O et al. Anti-dsDNA-NcX ELISA: dsDNA-loaded nucleosomes improve diagnosis and monitoring of disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*, 2011; 13(1): 26.
12. Werle E, Blazek M, Fiehn W. The clinical significance of measuring different anti-dsDNA antibodies by using the Farr assay, an enzyme immunoassay and a *Crithidia luciliae* immunofluorescence test. *Lupus*, 1992; 1: 369-77.
13. Hodinka L, Meretey K, Jancso A, Falus A, Korda J, Bozsoky S. Antibodies to native DNA in connective tissue disease. A comparison of radioimmunoassay, counter immunoelectrophoresis and indirect immunofluorescence on *Crithidia luciliae* substrate. *ArchImmunol Ther Exp*, 1979; 27: 641-6.
14. Holman HR, Kunkel HG. Affinity between the lupus erythematosus serum factor and cell nuclei and nucleoprotein. *Science*, 1957; 126: 162-3.
15. Friou GJ. Antinuclear antibodies: diagnostic significance and methods. *Arthritis Rheum*, 1967; 10: 151-9.
16. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann Rheum Dis*, 2010; 69(8): 1420-2.
17. Solomon DH, Kavanaugh AJ, Schur PH. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: antinuclear antibody testing. *Arthritis Rheum*, 2002; 47(4): 434-44.
18. Von Mühlen CA, Tan EM. Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. *Semin Arthritis Rheum*, 1995; 24(5): 323-58.
19. Fritzler MJ. Clinical relevance of autoantibodies in systemic rheumatic diseases. *Mol Biol Rep*, 1996; 23(3-4): 133-45.
20. Sjöwall C, Sturm M, Dahle C, Bengtsson AA, Jönsen A, Sturfelt G et al. Abnormal antinuclear antibody titer are less common than generally assumed in established cases of systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*, 2008; 35(10): 1994-2000.
21. Frodlund M, Dahlström O, Kastbom A, Skogh T, Sjöwall C. Associations between antinuclear antibody staining patterns and clinical features of systemic lupus erythematosus: analysis of a regional Swedish register. *BMJ*, 2013; 3(10): e003608.
22. Suh-Lailam B, Chiaro TR, Davis KW, Wilson AR, Tebo AE. Evaluation of a high avidity anti-dsDNA IgG enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Int J Clin Exp Pathol*, 2011; 4(8): 748-54.
23. Venner AA, Ibanez D, Gladman DD, Urowitz MB, MacKinnon A, Blasutig IM et al. Comparison of three anti-dsDNA assays: Performance and correlation with systemic lupus erythematosus disease activity. *Clinical Biochemistry*, 2013; 46: 317-20.
24. Chiaro TR, Davis KW, Wilson A, Suh-Lailam B, Tebo AE. Significant differences in the analytic concordance between anti-dsDNA IgG antibody assays for the diagnosis of systemic lupus erythematosus--implications for inter-laboratory testing. *Clin Chim Acta*. 2011; 412 (11-12): 1076-80.
25. Buzzulini F, Rigon A, Soda P, Onofri L, Infantino M, Arcarese L et al. The classification of *Crithidia luciliae* immunofluorescence test (CLIFT) using a novel automated system. *Arthritis Research Therapy*, 2014; 16: 71.
26. Ghirardello A, Villalta D, Morozzi G, Afeltra A, Galeazzi M, Gerli R et al. Diagnostic accuracy of currently available anti-double-stranded DNA antibody assays. *Clin Exp Rheumatol*, 2011; 29(1): 50-6.
27. Andrejevic S, Jeremic I, Bukilica MS, Nikolic M, Stojimirovic B, Nikolic BB. Immunoserological parameters in SLE: high-avidity anti-dsDNA detected by ELISA are the most closely associated with the disease activity. *Clin Rheumatol*, 2013; 32: 1619-26.
28. Compagno M, Jacobsen S, Rekvig OP, Truedsson L, Heegaard NH, Nossent J et al. Low diagnostic and predictive value of anti-dsDNA antibodies in unselected patients with recent onset of rheumatic symptoms: results from a long-term follow-up Scandinavian multicentre study. *Scand J Rheumatol*, 2013; 42(4): 311-6.



## Çocuk acil servisinde kene tutunması: asemptomatik olgularda laboratuvar gerekli mi?

### Tick bite in pediatric emergency department: is laboratory necessary in asymptomatic patients

Sinan OĞUZ<sup>1</sup>, Veli KORKMAZ<sup>2</sup>, Funda KURT<sup>1</sup>, Deniz TEKİN<sup>1</sup>, Emine SUSKAN<sup>1</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Kırım Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) keneler ile bulaşan potansiyel olarak ölümcül bir hastalıktır. İnkübasyon, prehemorajik, hemorajik ve konvalesan olmak üzere dört dönemden oluşan klinik bir seyre sahiptir. Ancak her kene tutunmasında hastalık oluşmayacağı için bu şikayetle başvuran olguların ayaktan izlenebileceği ve laboratuvar tetkiklerine gerek olmadığı belirtilmektedir. Bu çalışmada hastanemiz çocuk acil servisine kene tutunması ile gelen ve ek yakınması olmayan olguların klinik ve laboratuvar özellikleri incelenmiştir.

**Yöntem:** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Acil Servisine Ocak 2012-Aralık 2013 tarihleri arasında kene tutunması yakınması ile başvuran asemptomatik olguların dosyaları geriye dönük olarak incelenmiştir. Olguların yaş, cinsiyet, başvuru zamanı, kenenin vücuda tutunma bölgesi (baş boyun, gövde ve ekstremiteler olarak), kenenin kimin tarafından uzaklaştırıldığı, kene tutunma zamanı ile başvuru arasında geçen süre, fizik inceleme ve laboratuvar tetkikleri geriye dönük olarak incelenmiştir. Acil başvurusunda kene tutunmasına ek olarak ateş, halsizlik, karın ağrısı, baş ağrısı, kas ağrısı, kanama ya da herhangi bir ek yakınması olan olgular çalışmaya dâhil edilmemiştir.

**Bulgular:** Kene tutunması yakınması ile başvuran 54 (%64,3)'ü erkek, 30 (%35,7)'u kız toplam 84 olgu değerlendirmeye alınmıştır. Olguların yaş ortalaması

#### ABSTRACT

**Objective:** Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) is a potentially fatal disease which transmitted by ticks. There are four clinical course of disease including incubation, prehemorrhagic, hemorrhagic and convalescent period. The disease is not likely to occur for each tick bite, so tick bite cases could be follow outpatient and laboratory tests are not indicated. In this study, the clinical and laboratory properties of patients who presented with tick bite to our pediatric emergency department were evaluated.

**Method:** Asymptomatic tick bite cases, were who admitted to the Ankara University Pediatric Emergency Department, between January 2012 and December 2013, were investigated retrospectively. Gender, age, region cling to the body of the tick, physical examination and laboratory tests of cases and the person who removed out tick, were analyzed. Cases having symptoms like fever, weakness, abdominal pain, headache, muscle pain etc. in addition to tick bite, were not included in the study.

**Results:** Total of 84 cases composed of 54 (64.3%) male and 30 (35.7%) female, who presented symptoms of tick bite were evaluated. The average age of the cases was found to be  $6.49 \pm 3.77$  (4 months-15. 5 years). The most common application has been in August with a number of 20 (23.8%) cases. The head and neck was found to be most frequently (50%) attached region by

<sup>1</sup> Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Çocuk Acil Bilim Dalı, ANKARA

<sup>2</sup> Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Sinan OĞUZ

Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Çocuk Acil Bilim Dalı, ANKARA

Tel : +090 312 595 67 95

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

Geliş Tarihi / Received : 07.08.2014

Kabul Tarihi / Accepted : 14.01.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.09471

Oğuz S, Korkmaz V, Kurt F, Tekin D, Suskan E. Çocuk acil servisinde kene tutunması: asemptomatik olgularda laboratuvar gerekli mi?. Turk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(2): 109-14.

6,49 ± 3,77 (4 ay - 15,5 yıl) olarak bulunmuştur. En sık başvuru 20 (%23,8) olgu ile Ağustos ayında olmuştur. Kenenin en sık (%50) baş boyun bölgesine tutunduğu görülmüştür. Olguların %79,2'sinde keneyi doktor çıkarmıştır. 75 (%89,3) olguda tam kan sayımı, 45 (%53,6) olguda karaciğer fonksiyon testleri ve 64 (%76,2) olguda kanama profili tetkiklerinin yapıldığı görülmüştür. Tüm laboratuvar sonuçları normal sınırlarda saptanmıştır.

**Sonuç:** Olgu sayılarının yıllar içinde artması ve ölüme sonuçlanabilen bir hastalığa yol açması nedeni ile kene ile bulaşan hastalıklar güncelliğini korumaktadır. Sonuç olarak kene tutunması yakınması ile başvuran olgularda dikkatli fizik inceleme sonrası hastalığa ait bulgular anlatılarak, on gün içerisinde ani ateş yükselmesi, baş ve kas ağrısı, halsizlik yakınmaları olursa tekrar başvurularını gerektiği belirtilerek ayaktan izlenmesi uygun gözükmektedir. Yakınması olmayan olgularda erken dönemde laboratuvar tetkiklerinin yapılmasında fayda görülmemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Kene tutunması, Kırım Kongo Kanamalı Ateşi, Çocuk Acil Servisi

ticks. In 79.2% of cases, the tick were removed out by a doctor. It was determined that in 75 (89.3%) cases complete blood count tests, in 45 (53.6%) cases liver function tests and in 64 (76.2%) cases haemostasis panel tests were performed. All laboratory results were found to be within normal reference ranges.

**Conclusion:** Tick-transmitted diseases remain up to date because of leading to a fatal disease and the increased number of cases over the years. As a result, in cases with complaints of tick bite, the findings of the disease should be explained after careful physical examination. If sudden fever, head and muscle aches, fatigue symptoms occur within ten days, it should be noted that they must apply again. In these cases ambulatory monitoring seems appropriate. The laboratory tests were seen to be ineffective in the early stages of asymptomatic cases.

**Key Words:** Tick bite, Crimean-Congo Hemorrhagic Fever, Pediatric Emergency Department, Laboratory

## GİRİŞ

Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) ilk kez 1945 yılında Kırım'da, Rus askerler arasında görülmüştür. 1956 yılında benzer hastalık Kongo'da tespit edilmiştir. 1969 yılında her iki bölgede saptanan hastalığın aynı virüse bağlı olduğu gösterilmiş ve hastalık Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi adını almıştır (1). Bunyavirus ailesinin Nairovirus soyuna ait olan KKKA virusu kenelerden insanlara bulaşır. Yüksek ateş ve kanamalarla seyreden bir kliniğe sahip olan hastalığın mortalitesi %3-30 arasında değişmektedir (2). Türkiye'de ilk kez 2002 yılında Tokat'ta saptanmış olan KKKA hastalığı, Kızılırmak Havzasında, Tokat, Sivas ve Yozgat illerimizde salgınlara neden olmaktadır (3, 4). KKKA virüsüne bağlı hastalık bulgularının görüldüğü bilinen tek konak insandır. İnkübasyon, prehemorajik, hemorajik ve konvalesan olmak üzere dört dönemden oluşan klinik bir seyre sahiptir (1, 2).

Olgu sayılarının yıllar içinde artması ve ölüme sonuçlanabilen bir hastalığa neden olması nedeni ile kene ile bulaşan hastalıklar güncelliğini korumaktadır.

Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı 14.07.2006 tarihinde Kırım Kongo Kanamalı Ateşi ile ilgili bir genelge yayınlamıştır. Bu Genelge'de: "Vücudundan kene alınan vatandaşların hastaneye yatırılmasına ve tahlil yapılmasına gerek olmadığı; kenenin çıkarıldığı yere antiseptik uygulanmasının uygun olduğu, vatandaşların kendilerini 10 gün süreyle izlemeleri; ani başlayan ateş, baş ağrısı, yoğun halsizlik, bulantı ve kusma gibi şikâyetlerinin olması hâlinde sağlık kuruluşuna müracaat etmelerinin daha uygun olduğu" belirtilmiştir (5).

Bu çalışmada hastanemiz çocuk acil servisine iki yıl içinde kene tutunması ile başvuran olguların

demografik, klinik ve laboratuvar incelemeleri değerlendirilerek, asemptomatik olgularda erken dönemde laboratuvar tetkiklerinin ne kadar gerekli olduğu tartışılmıştır.

## YÖNTEM

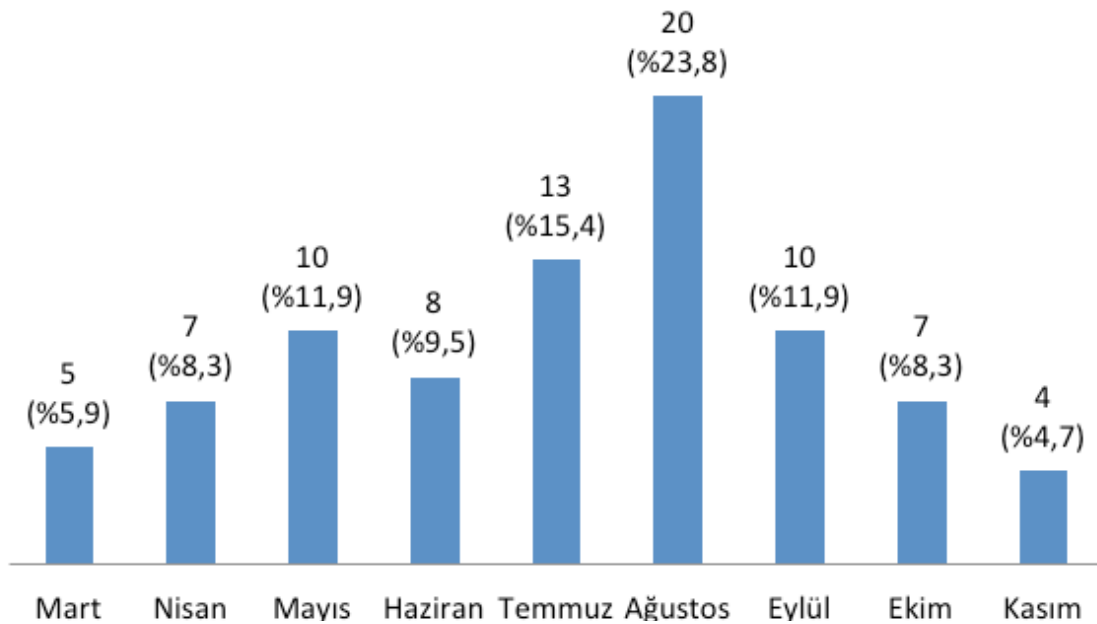
Çalışmaya Ocak 2012 - Aralık 2013 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Acil Servisine kene tutunması yakınması ile başvuran ve ek yakınması olmayan 84 olgu dâhil edilmiştir. Olguların yaş, cinsiyet, başvuru zamanı, kenenin vücuda tutunma bölgesi (baş boyun, gövde ve ekstremiteler), kenenin kimin tarafından uzaklaştırıldığı, kene tutunma zamanı ile başvuru arasında geçen süre, fizik inceleme ve laboratuvar tetkikleri geriye dönük olarak incelenmiştir.

Çalışma sonuçları istatistiksel olarak SPSS v16 programı ile değerlendirilmiştir. Değerler ortalama ve standart sapmaları hesaplanarak belirtilmiştir.

## BULGULAR

Olguların 54 (%64,3)'ü erkek, 30 (%35,7)'u kız ve yaş ortalaması  $6,49 \pm 3,77$  yıl (4 ay - 15,5 yıl) olarak saptanmıştır. Başvuru zamanları değerlendirildiğinde olguların Ağustos ayında (%23,8) sıklığı gözlenmiştir. Ağustos ayı sıklık sırasına göre Temmuz, Eylül ve Mayıs ayları izlemiştir (Şekil 1).

Kene tutunmasından üç gün sonra gelen bir olgu dışında tüm olgular kene tutunmasını farkedemez hemen hastanemize başvurmuştur. Vücut bölgelerine göre değerlendirildiğinde kene tutunmasının en sık (%50) baş boyun bölgesinde, sonrasında gövdede (%28,3), kol ve bacaklarda (%21,7) olduğu gözlenmiştir. Olguların %79,2'sinde kene acil servis doktoru tarafından uzaklaştırılmıştır. Sokma yerinde hiperemi en sık saptanan fizik inceleme bulgusu olarak kaydedilmiştir. Laboratuvar incelemelerinde; 75 (%89,3) olguda tam kan sayımı, 45 (%53,6) olguda karaciğer fonksiyon testleri Aspartataminotransferaz (AST),



Şekil 1. Ocak 2012 - Aralık 2013 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Acil Servisine kene tutunması yakınması ile başvuran olguların aylara göre dağılımı

Alaninaminotransferaz (ALT) ve 64 (%76,2) olguda kanama profili Aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT), International normalized ratio (INR) tetkiklerinin isteminin yapıldığı gözlenmiştir. Laboratuvar sonuçları tüm olgularda normal referans aralıkları içerisinde saptanmıştır. Olguların laboratuvar sonuçları tabloda gösterilmiştir (Tablo 1).

**Tablo 1.** Ocak 2012 - Aralık 2013 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Acil Servisine kene tutunması yakınması ile gelen olguların ilk başvurudaki laboratuvar sonuçları

İstenilen Tetkikler	Bulgular
	Ortalama ± standart sapma
Hemoglobin (g/dL)	12,2 ± 1,1
Beyaz Küre sayısı (/mm <sup>3</sup> )	8,5 ± 2,1
Trombosit sayısı (/mm <sup>3</sup> )	335 ± 83
AST (IU/L)	28,6 ± 5,5
ALT (IU/L)	17,2 ± 5,4
aPTT (sn)	33,5 ± 3
INR	0,99 ± 0,07

## TARTIŞMA

KKKA potansiyel olarak ölümcül bir enfeksiyon hastalığıdır. Hastalığın bulaşmasında virüsün doğal rezervuarı olan keneler önemli bir rol oynar. Yaklaşık 850 farklı kene türü bulunmasına karşın 30 kadar tür insanlara hastalık bulaştırmada etkin rol oynar (6). *H. marginatum marginatum*, *H. marginatum rufipes* ve *H. anaticum anaticum* bulaşmada sıklıkla rol alan türler olarak bilinmektedir (7, 8).

Keneler özellikle hayvancılığın yapıldığı, otlak ve çalılık alanlarda yaşarlar. Ancak ülkemizin tüm bölgelerinde görülebilmektedir. İç Anadolu bölgesinde endemik olarak karşımıza çıkmaktadır (3, 4, 9). Kene tutunması olan olgular hastalığın korkusu ile acil servislere başvurmakta ve çoğunlukla ilk müdahaleler buralarda yapılmaktadır (10).

Çalışmamızda ülkemizdeki diğer çalışmalara (10 - 12) benzer şekilde en sık başvuru yaz aylarında olmuştur. Bu durum havaların ısınması ile çocukların kır ve piknik alanlarında daha fazla vakit geçirmesi ile açıklanabilir. Özellikle Ağustos ayı olguların en sık görüldüğü ay olmuştur.

Çalışmamızda diğer çalışmalara (10, 11) benzer şekilde vakaların erkek çocuklarda %64,3 oranla kızlardan daha fazla olduğu görülmüştür. Bu durum erişkinlerde tarım ve hayvancılık ile erkeklerin daha fazla uğraşmaları ile açıklanmıştır. Çocuklarda ise bu durum erkek çocuklarının daha meraklı ve araştırmacı olmaları ile açıklanabilir. Piknik ve kır gezileri kene ile temas dolayısı ile kene tutunması için risk faktörüdür (13).

Duman ve arkadaşları çocuk acil servisine kene tutunması ile başvuran olguları değerlendirdikleri çalışmalarında yaş küçüldükçe kenenin baş boyun bölgesine daha fazla tutunduğunu, büyüdüğü ise alt ekstremitelerde daha sık olduğunu belirtmişlerdir (13). Över ve ark.'da benzer sonuçlara ulaşmışlardır (14). Bizim çalışmamızda da kenenin en sık baş ve boyun bölgesine tutunduğu saptanmıştır. Erişkinlerin dâhil edildiği çalışmalarda ise kenenin en sık tutunma yeri alt ekstremiteler olarak belirlenmiştir (12, 15).

Kene tutunması saptanırsa kenenin hemen uzaklaştırılması gerekir. Bu iş için bir pens veya cımbızın kullanılabileceği belirtilmiştir (16). Sağlık Bakanlığı tarafından yayınlanan KKKA genelgesinde kene tutunması olan bireylerin keneyi kendilerinin çıkarabilecekleri ve hastaneye başvurmanın şart olmadığı belirtilmiştir. Ancak durum gerçekte pek böyle olmamaktadır. Hastanemize başvuran olguların çok büyük bir kısmında (%79,2) keneyi doktorlar çıkarmıştır. Dolayısı ile sağlık personelinin keneyi nasıl uzaklaştıracağını bilmesi ve bu konuda eğitilmesi gerekmektedir. Bunun yanı sıra toplumun bu konudaki eğitim ve farkındalığının artırılması da hedeflenmelidir.

KKKA'da en önemli laboratuvar bulgusu lökopeni ve trombositopenidir. Klinik olarak kanama olmaksızın hemoglobin düşüklüğü gözlenebilir. Karaciğer fonksiyon testlerinde yükseklik, aPTT ve INR de uzama gözlenebilir. Sağ kalan bireylerde 6-9 gün içinde kan değerlerinde düzelme olmaktadır (16, 17). Bu çalışmada kene tutunması ile başvuran asemptomatik olgularda, yapılan tüm kan tetkikleri normal sınırlarda saptanmıştır. Bu durum asemptomatik olgularda, erken dönemde kan tetkiklerinin yapılmasının gerekli olmadığını düşündürmüştür. Daha önce yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlara ulaşılmıştır (10, 11, 13).

Hastalık kenelerle bulaştığından kenelere karşı alınacak önlemler ile hastalıktan korunma mümkündür. Kenelerin Nisan-Ekim aylarında sık görüldüğü düşünüldüğünde bu dönemlerde kır gezilerinde ve piknik yapılırken uzun kollu kıyafet giymek, çorapları pantolonun üzerine çekmek ve ara ara vücudu ve elbiseleri kene açısından kontrol etmek uygundur. "Repellent" adı verilen böcek kovucuların kenelerden korunmada etkinliğinin

yüksek, yan etkilerinin düşük olduğu gösterilmiştir (18).

Bu amaçlı çalışmaların bazı kısıtlılıkları vardır. En önemli kısıtlılık geriye dönük olarak yapılmış olmasıdır. Ayrıca olguların takip eden günlerde yakınmalarının olup olmadığı, hastalığın gelişip gelişmediği hakkında bilgi yoktur. Tek merkeze başvuran olguların değerlendirilmesi de çalışmanın bir başka kısıtlılığıdır. Ancak bu çalışmada asemptomatik bireylerde erken dönemde laboratuvar tetkiklerinin gerekli olup olmadığı değerlendirilmeye çalışılmıştır. Çok merkezli ve ileriye dönük çalışmaların yapılması ile daha güvenilir verilere ulaşılabileceği açıktır.

Sonuç olarak kene tutunması yakınması ile başvuran olgularda dikkatli fizik inceleme sonrası hastalığa ait bulgular anlatılarak, on gün içerisinde ani ateş yükselmesi, baş ve kas ağrısı, halsizlik yakınmaları olursa tekrar başvurmaları gerektiği belirtilerek ayaktan izlenmesi uygun görülmektedir. Kene tutunması dışında ek yakınması olmayan olgularda laboratuvar tetkiklerinin yapılmasının faydası görülmemiştir.

## KAYNAKLAR

1. Ergonul O. Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Lancet Infect Dis*, 2006; 6(4): 203-14.
2. Ergonul O. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: new outbreaks, new discoveries. *Curr Opin Virol*, 2012; 2(2): 215-20.
3. Karti SS, Odabasi Z, Korten V, Yılmaz M, Sonmez M, Caylan R, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey. *Emerg Infect Dis*, 2004; 10(8): 1379-84.
4. Yılmaz 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.
5. T.C. Sağlık Bakanlığı Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Genelgesi Sayı:2006/81 Tarih: 14.07.2006.
6. 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.
7. Aydın L, Bakirci S. Geographical distribution of ticks in Turkey. *Parasitol Res*, 2007; 101(2): 163-6.
8. Gargılı A. Kenelerin Vektörlüğü ve Türkiye'de Durum. *ANKEM Derg*, 2009; 23(2): 249-52.
9. Kandış H, Katirci Y, Uzun H, Güneş H, Kara İH, Geyik MF. Endemik bir bölgede kene ısırığı nedeniyle acil servise başvuran olguların demografik ve epidemiyolojik özellikleri. *Duzce Tıp Derg*, 2010; 12(1): 18-23.

10. Bucak İH, Temiz F, Tümgör G, Canöz PY, Demir A, Kişi E, et al. Üçüncü basamak merkezde 161 kene ısırığı vakasının değerlendirilmesi. *J Pediatr Inf*, 2013; 7(1): 3-6.
11. Tezer H, Şaylı TR, Bilir ÖA, Demirkapı S. Çocuklarda Kene Isırması Önemli midir? 2008 Yılı Verilerimiz. *J Pediatr Inf*, 2009; 3(2): 54-7.
12. Gönen İ. Tokat ili Erbaa Devlet Hastanesine başvuran kene tutunması olgularının değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2011; 68(2): 79-84.
13. Duman M, İnceboz T, Gençpınar P, Leyla Ö, Çelik D. Çocuk acil servisine kene tutunması yakınması ile başvuran olguların değerlendirilmesi. *Türk Klin J Med Sci*, 2013; 33(1): 164-71.
14. Över L, İnceboz T, Yapar N, Bakırcı S, Günay T, Akısü Ç. Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'ne kene tutunması yakınması ile başvuran olguların araştırılması. *Türk Parazitol Derg*, 2012; 36: 75-81.
15. Uluğ M. Kene Isırması Nedeniyle Başvuran Olguların Epidemiyolojik, Klinik ve Laboratuvar Bulgularının İrdelenmesi. *Klimik Derg*, 2011; 24(1): 40-3.
16. Kara A. Kırım Kongo kanamalı ateşi. *Türk Arch Ped*, 2008; 43(4): 108-18.
17. Seçmeer G, Çelik İH. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi. *J Pediatr Inf*, 2010; 4(4): 152-9.
18. Dinler O, Yavuz O. Kenelerden Korunmak Amacıyla Kullanılan Repellent (Kovucu) Maddeler Ve Toksikolojik Değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2010; 67(4): 199-212.

## Son iki yılda Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Hastanesi'nde kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi

### Evaluation of microorganisms isolated from blood cultures and antibiotic sensitivity obtained at Kahramanmaraş Necip Fazıl City Hospital in the last two years

Esra ÖZKAYA<sup>1</sup>, Seray TÜMER<sup>1</sup>, Özlem KİRİŞÇİ<sup>1</sup>, Ahmet ÇALIŞKAN<sup>1</sup>, Pınar ERDOĞMUŞ<sup>2</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Kan akımı enfeksiyonları (KAİ) mortaliteyi ve morbiditeyi arttıran önemli hastane enfeksiyonlarından biridir. KAİ'nin erken tanısı, enfeksiyona neden olan organizmanın tespit edilmesi ve antimikrobiyal duyarlılık testlerinin yapılması hastanın prognozu açısından oldukça önemlidir. Bu çalışma da kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiyal duyarlılıkları incelenerek, hastanemizdeki KAİ etkenlerinin dağılımı ve antimikrobiyal ilaç duyarlılığının ortaya konması amaçlandı.

**Yöntemler:** Çalışmamızda Eylül 2012 - Mayıs 2014 tarihleri arasında Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına tüm birimlerden gönderilen kan kültürü örnekleri incelendi. Örnekler BACTEC/9050 (Becton Dickinson, Maryland, ABD) otomatize sisteminde inkübe edildi. Mikroorganizmaların tanımlanmasında konvansiyonel yöntemlere ek olarak gerektiğinde Vitek 2.0 Compact (Biomerieux, Fransa) otomatize sistemi kullanıldı. İzolatların antibiyotiklere duyarlılık testleri, Kirby Bauer disk difüzyon yöntemiyle Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) standartlarına uygun olarak çalışıldı.

**Bulgular:** Çalışma süresince laboratuvarımıza toplam 2.923 kan kültürü örneği gönderildi. Gönderilen

#### ABSTRACT

**Objective:** Blood stream infections (BSI) is one of the significant hospital-acquired infections that increase mortality and morbidity. Early diagnosis of BSI, identification of microorganisms that cause infection and analyzing antimicrobial sensitivity tests are important in terms of patient's prognosis. In this study microorganisms isolated from blood cultures and their antimicrobial sensitivity were investigated. Besides, to reveal the distribution of our hospital's BSI pathogens and to present their antimicrobial sensitivity patterns, were aimed.

**Methods:** In this study blood culture samples collected at Kahramanmaraş Necip Fazıl City Hospital between September 2012 - May 2014, were examined. Samples were incubated with BACTEC/90050 (Becton Dickinson, Maryland, the USA) automatization system. For the identification of microorganisms, Vitek version 2.0 (Biomerieux, France) automatization system was used in addition to conventional methods when necessary. Antibiotic sensitivity tests were studied in compliance with Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standards with Kirby-Bauer disc diffusion susceptibility test.

**Results:** During our study period 2.923 blood cultures were analysed. Six hundred ninety seven

<sup>1</sup> Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, KAHRAMANMARAŞ

<sup>2</sup> Gama Tıp Merkezi, GAZİANTEP



İletişim / Corresponding Author : Esra ÖZKAYA

Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, KAHRAMANMARAŞ

Tel : +09 0 322 355 01 01

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

Geliş Tarihi / Received : 11.09.2014

Kabul Tarihi / Accepted : 20.01.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.49260

Özkaya E, Tümer S, Kirişçi Ö, Çalışkan A, Erdoğan P. Son iki yılda Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Hastanesi'nde kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(2): 115-22.

kan kültürü örneklerinin 697 (% 23,9)'sinde üreme oldu, 89 (%3,04)'u kontaminasyon olarak değerlendirilirken, 2137 (%73,1)'sinde üreme tespit edilmedi. Üreyen izolatlardan 113 (%16,2) tanesi mükerrer izolat kabul edilip değerlendirme dışı bırakılarak 584 (%20,0) izolat değerlendirmeye alındı. Değerlendirmemiz sonucunda; patojenler arasında ilk sırayı %58,2 ile koagüloz negatif stafilocok (KNS) ve bunu %8 ile *Escherichia coli*, %7,9 ile *Acinetobacter* spp. aldığı izlendi. Bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarına bakıldığında, KNS'lerde metisiline direncin %54,9, *Staphylococcus aureus*'da %34,4 olduğu tespit edildi. Buna karşılık vankomisin ve linezolid karşı iki bakteri türünde de direnç saptanmadı. Enterokoklarda ise %55,6 penisilin direnci belirlendi. Bir (%4,5) hastada vankomisin direnci saptanırken, linezolid ve teikoplanin direnci görülmedi. *Enterobacteriaceae* ailesinin tigesikline duyarlı olduğu görüldü. *Klebsiella* spp.'de %5,9 oranında imipenem direnci saptandı. *Acinetobacter* spp.'nin en çok tigesikline (%2,4) duyarlı olduğu görüldü.

**Sonuç:** Klinisyenlere yol göstermesi açısından ampirik tedavi protokollerinin güncellenmesi, doğru antibiyotik kullanımı için belirli zaman aralıklarında kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmaların dağılımını ve duyarlılık paternini gösteren çalışmaların yapılması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Kan, kültür, mikroorganizma, ilaç direnci

(23,7%) samples gave reproductive signal as positive. We observed contamination in 89 (12.8%) of samples. In 2137 (73.1%) samples reproductive signal was not received. While repeating isolates were excluded from study, 584 (20.0%) isolates were included in the study. The most-common organisms causing BSIs were coagulase negative staphylococci (CNS) (58.2%), *Escherichia coli* (8%) and *Acinetobacter* spp. (7.9%). Methicillin resistance was detected in 54.9% of CNS isolates and in 34.4% *Staphylococcus aureus* isolates. However vancomycin and linezolid resistance were not detected in both of the bacteria. For Enterococci, 55.6% penicilline resistance was determined. For one patient (4.5%) vancomycine resistance was detected, linezolid and teichoplamin resistance were not stated. Isolates belonging to *Enterobacteriaceae* family were sensitive to tigecycline. Among *Klebsiella* spp., 5.9% of the isolates were resistant to imipenem. 2.4% of *Acinetobacter* spp. isolates were resistant to tigecycline.

**Conclusion:** To refer clinicians, there is need to make studies about distribution of microorganisms and their antibiotic sensitivity patterns which are isolated from blood cultures in certain time intervals for updating empirical treatment protocols and right usage of antibiotics.

**Key Words:** Blood, culture, microorganism, drug resistance

## GİRİŞ

Kan akımı enfeksiyonları (KAİ) mortaliteyi ve morbiditeyi artıran önemli hastane enfeksiyonlarından biridir (1). KAİ'nin yüksek risk faktörü uzun süreli intravasküler kateterizasyondur. KAİ 'ye neden olan diğer faktörler; üriner sistem, solunum sistemi, yara yeri ve gastrointestinal sistem enfeksiyonlarıdır (2). Hastane enfeksiyonlarının %15,0'ini oluşturan kan akımı enfeksiyonları; şok, çoklu organ yetmezliği, dissemine intravasküler koagülasyon ve ölüme neden olan ciddi ve çabuk gelişen tablolar oluşturabilmektedir (3,4). KAİ'nin erken tanısı, enfeksiyona neden olan organizmanın tespit edilmesi ve antimikrobiyal

duyarlılık testlerinin yapılması hastanın prognozu açısından oldukça önemlidir (5). KAİ'ye neden olan mikroorganizmalar geniş bir yelpaze içinde dağılmaktadır. En sık Gram pozitif koklar (özellikle stafilocoklar ve enterokoklar) ve Gram negatif basiller (özellikle *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* (*E. coli*), *Acinetobacter* ve *Klebsiella* türleri) izole edilmektedir. Bakterileri *Candida* türleri başta olmak üzere mayalar izlemektedir (1, 5).

Hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarında Eylül 2012 - Mayıs 2014 tarihleri arasında kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiyal ilaç



duyarlılıkları incelenerek, KAl etkenlerinin dağılımı ve antimikrobiyal ilaç duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlandı.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda Eylül 2012-Mayıs 2014 tarihleri arasında 500 yataklı Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na tüm birimlerden gönderilen kan kültürü örnekleri incelendi. Kan kültürü örnekleri BACTEC/9050 (Becton Dickinson, Maryland, ABD) otomatize sisteminde inkübe edildi. Üreme sinyali veren örnekler Gram boyama işlemi uygulandı. Ardından OR-BAK (Türkiye) firmasından alınan %5 koyun kanlı agar, Eosin Metilen Mavis (EMB) agar ve çikolatamsı agar besiyerlerine ekilerek 35 °C'de 24-48 saat aerobik ortamda inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında üreyen koloniler değerlendirilmeye alındı. Mikroorganizmaların tanımlanmasında konvansiyonel yöntemlere ek olarak gerektiğinde Vitek 2.0 Compact (Biomerieux, Fransa) otomatize sistemi kullanıldı. İzolatların antibiyotiklere duyarlılık testleri, Kirby Bauer disk difüzyon yöntemiyle Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) standartlarına uygun olarak çalışıldı (6).

Aynı hastaya ait birden fazla izolat çalışmaya dahil edildi. Bu izolatların seçilmesinde antibiyotik direnç paterninin farklı olması veya farklı dönemlerdeki kültür numunelerinde üreyen mikroorganizmalar olması esas alındı. Aynı anda alınan kan kültürlerinden yalnızca birinde deri florasına ait olan Bacillus türleri, Corynebacterium türleri, mikrokoklar ve koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) üretilmişse bu mikroorganizmalar kontaminasyon olarak yorumlandı (4).

## BULGULAR

Çalışma süresince laboratuvarımıza toplam 2923 kan kültürü örneği gönderildi. Gönderilen kan

kültürü örneklerin 697 (%23,9)'sinde üreme oldu, 89 (%3,04)'u kontaminasyon olarak değerlendirilirken; 2137 (%73,1)'sinde üreme tespit edilmedi. Üreyen izolatlardan 113 (%16,2) tanesi mükerrer izolat kabul edilip değerlendirme dışı bırakılarak 584 (%20,0) izolat değerlendirmeye alındı. Mikroorganizmaların cerrahi, dahili ve yoğun bakım birimlerindeki üreme oranları Tablo 1'de verildi. Tüm izolatlarda tek mikroorganizma üredi.

İncelemeye alınan kan kültür örneklerinden üreyen mikroorganizmaların % 68,9'unu Gram pozitif bakteriler, %26,1'ini Gram negatif bakteriler ve %4,8'ini mayalar oluşturmaktaydı. Etken kabul edilen patojenler arasında ilk sırayı %58,2 ile KNS'ler almakta ve bunu %8,0 ile *E. coli*, %7,9 ile *Acinetobacter* spp. takip etmekteydi.

Gram pozitif bakterilerin antibiyotik duyarlılık testleri incelendiğinde; metisilin direncinin KNS'lerde %54,9, *S. aureus* 'da %34,4 olduğu tespit edildi. Buna karşılık vankomisin ve linezolid karşı iki bakteri türünde de direnç saptanmadı.

Enterokokların antibiyotik duyarlılıklarını incelediğimizde ise %55,6 penisilin direnci belirlendi. Linezolid ve teikoplanin direnci görülmezken bir hastada (%4,5) vankomisin direnci saptandı. Tablo 2'de çalışmaya dahil edilen Gram pozitif izolatların antimikrobiyal direnç oranları verildi.

Gram negatif izolatların antimikrobiyal duyarlılıklarına baktığımızda; *Enterobacteriaceae* ailesinin tigesikline duyarlı olduğu görüldü. *E. coli* ve *Enterobacter* spp.'de karbapenemlere karşı direnç tespit edilmezken, *Klebsiella* spp.'de %5,9 oranında imipenem direnci saptandı.

Gram negatif mikroorganizmalardan, *Acinetobacter* spp. ve *P. aeruginosa*'yı incelediğimizde; *Acinetobacter* spp'nin en çok tigesikline duyarlı olduğunu, *P. aeruginosa*'nın ise en çok sefepime duyarlı olduğu görüldü. Tablo 3'de en sık üreyen beş Gram negatif bakterinin antimikrobiyal direnç oranları verildi.

**Tablo 1.** Kan kültüründen izole edilen mikroorganizmaların cerrahi, dahili ve yoğun bakım birimlerindeki üreme oranları (%)

Mikroorganizma	Klinik Birimler						Toplam	
	Dahili birimler		Cerrahi birimler		Y B Ü		Sayı	Yüzde*
	Sayı	Yüzde*	Sayı	Yüzde*	Sayı	Yüzde*		
KNS	79	13,5	14	2,4	247	42,3	340	58,2
<i>Escherichia coli</i>	19	3,3	4	0,7	24	4,1	47	8,0
<i>Acinetobacter</i> spp.	1	0,2	1	0,2	44	7,5	46	7,9
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	1,7	-	-	22	3,8	32	5,5
<i>Candida</i> spp.	2	0,3	1	0,2	25	4,3	28	4,8
<i>Enterococcus</i> spp.	4	0,7	-	-	18	3,1	22	3,8
<i>Klebsiella</i> spp.	4	0,7	1	0,2	13	2,2	18	3,1
<i>Brucella</i> spp.	12	2,1	-	-	-	-	12	2,1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	10	1,7	10	1,7
<i>Streptococcus</i> spp.	3	0,5	2	0,3	3	0,5	8	1,4
<i>Enterobacter</i> spp.	1	0,2	-	-	5	0,9	6	1,0
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2	0,3	-	-	2	0,3	4	0,7
<i>Serratia</i> spp.	1	0,2	-	-	2	0,3	3	0,5
<i>Citrobacter</i> spp.	-	-	-	-	2	0,3	2	0,3
<i>Proteus</i> spp.	-	-	-	-	2	0,3	2	0,3
<i>Achromobacter denitrificans</i>	-	-	-	-	2	0,3	2	0,3
<i>Salmonella</i> spp.	-	-	-	-	1	0,2	1	0,2
<i>Ralstonia pickettii</i>	-	-	-	-	1	0,2	1	0,2
<b>TOPLAM</b>	<b>138</b>	<b>23,7</b>	<b>23</b>	<b>4,0</b>	<b>423</b>	<b>72,3</b>	<b>584</b>	<b>100</b>

YBÜ : Yoğun Bakım Ünitesi; KNS: Koagülaz Negatif Stafilokok

\*Yüzde oranları toplam içindeki yüzdeyi temsil etmektedir.

**Tablo 2.** Kan kültüründen izole edilen Gram pozitif bakterilerin antimikrobiyal direnç oranları (%)

Mikroorganizma	Antimikrobiyal Madde										
	P	OX	E	DA	Rif	SXT	CIP	VA	TEC	LZD	GN
<i>Staphylococcus aureus</i> (n=32)	96,9	34,4	48,4	-	100	17,9	31,0	0	0	0	29,4
KNS (n=340)	95,9	54,9	74,3	44,4	86,1	48,9	56,8	0	0	0	35,1
<i>Enterococcus</i> spp. (n=22)	55,6	-	85,7	25,0	-	-	60,0	4,5	0	0	47,1

KNS: Koagülaz Negatif Stafilokok, P: Penisilin, OX: Oksasilin, DA: Klindamisin, VA: Vankomisin, TEC: Teikoplanin, CIP: Siprofloksasin, SXT: Trimetoprim-Sulfametaksazol, GN: Gentamisin, LZD: Linezolid, Rif: Rifampisin

Tablo 3. Kan kültüründen izole edilen Gram negatif bakterilerin antimikrobiyal direnç oranları (%)

Mikroorganizma	Antimikrobiyal Madde																
	SXT	AMP	AMC	SAM	TZP	AK	GN	CXM	FOX	CAZ	CTX	CRO	FEP	CIP	IMP	CES	TGC
<i>Escherichia coli</i> (n= 47)	53,5	75	54,8	55,2	15,2	10,5	28,6	5,4	10,5	53,6	59,3	52,4	47,6	40	0	9,7	0
<i>Acinetobacter</i> spp. (n=46)	86,1	100	92	90,3	92,3	25	88,9	100	100	86,4	95,5	97,2	94,3	94,9	91,1	66,7	2,4
<i>Klebsiella</i> spp. (n=18)	37,5	-	81,8	80	25	18,2	7,7	62,5	9,1	90	40	54,5	53,3	40	5,9	33,3	0
<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> (n=10)	-	100	50	50	14,3	37,5	62,5	50	50	33,3	-	-	10	25	11,1	16,7	-
<i>Enterobacter</i> spp. (n=6)	25	100	100	80	25	0	-	30	80	30	50	20	25	20	0	-	0

AK: Amikasin, AMC: Amoksisilin-klavulanik asit, AMP: Ampisilin, CTX: Sefotaksim, FOX: Sefoksitin, CAZ: Seftazidim, CIP: Siprofloksasin, GN: Gentamisin, IMP: Imipenem, TZP: Piperasilin- tazobaktam, SXT: Trimetoprim-sulfametoksazol, CRO: Seftriakson, FEP: Sefepim, CXM: Sefuroksim, CES: Sefoperazon-sulbaktam, TGC: Tigesiklin, SAM: Ampisilin-Sulbaktam

## TARTIŞMA

KAI hastane enfeksiyonları arasında düşük bir orana sahip olmasına karşın mortalite oranı oldukça yüksektir. Bazı mikroorganizmalar için mortalite oranı %50,0'den fazladır, polimikrobiyal enfeksiyonlarda bu oran % 63,0'e kadar çıkmaktadır (7, 8). Bu nedenle tanı ve tedavinin planlanmasında, klinik bulgularla laboratuvar sonuçlarının beraber değerlendirilmesi gerekmektedir. Bizim çalışmamızda hastalarımızın hepsinde polimikrobiyal enfeksiyon bulunmaktaydı.

Bakteriyemi tanısında otomatize kan kültürü sistemlerinin kullanıma girmesiyle birlikte sonuçlara daha hızlı ve güvenilir olarak ulaşmakta ve kontaminasyon oranları düşük seviyede saptanmaktadır. Fakat her ne kadar uygun şekilde alınmaya çalışılsa da kan kültürlerinde kontaminasyon görülmesi engellenememektedir (9). Çalışmamızda kontaminasyon oranını, ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla uyumlu olarak %3,04 oranda saptanmıştır (9, 10).

Dünyada pek çok çalışmada bahsedildiği gibi Yoğun Bakım Üniteleri (YBÜ)'nde septisemi önemli

bir sorundur. Septisemiye hastanede yatış sürelerinin uzun olması, gelişen immünsüpresyon ve invaziv girişimler gibi nedenler yol açabilmektedir (11, 12). Çalışmamızda KAI'leri servisler arasında %72,4 ile en çok YBÜ'lerde görüldü.

KAI'lere neden olan mikroorganizmalar içinde, önceki yıllarda Gram negatif mikroorganizmalar ilk sırayı alırken, ilerleyen yıllarda Gram pozitif mikroorganizmaların ön plana çıktığı görülmektedir. Türkiye'de yapılan araştırmalara baktığımızda Gram pozitif bakterilerin KAI içinde oranları %31,0-80,0 arasında, Gram negatif bakterilerin %10,0-61,0 arasında enfeksiyon etkeni olarak bildirildiğini görüyoruz (5, 13-19). Yurtdışında yapılan çalışmalarda da KAI'in ülkemizde yapılan çalışmalara paralel olduğunu görmekteyiz. Hindistan'da Garg ve ark. Gram pozitif bakterileri %67,5, Gram negatif bakterileri %32,5 oranında septisemi etkeni olarak belirlemişlerdir (1). Wisplinghoff ve ark. ABD'de 24.179 vakada yaptıkları çalışmalarında Gram pozitif bakterileri %65,0, Gram negatif bakterileri %25,0 oranında bulmuşlardır (20). ABD'deki başka bir incelemede ise benzer şekilde

%54,0 Gram pozitif bakterileri, %29,0 Gram negatif bakterileri etken olarak göstermişlerdir (21). Bizim çalışmamızda da yurtiçi ve yurt dışında yapılan çalışmalara benzer şekilde %68,9 Gram pozitif bakteriler, %26,1 Gram negatif bakteriler etken bulundu.

Uzun süreli antibiyotik kullanımı, immün sistemi baskılayıcı tedaviler, malignite, kateter kullanımı ve hastanede yatış süresinin uzunluğu kandidemilerin en önemli nedenleri arasındadır (5, 14). Ülkemizde yapılan çalışmalarda %1,2 - 10,4 arasında değişen oranlarda mayaların KAI etkeni olduğu bildirilmiştir (5, 13-15). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde %4,8 oranında mayalar etken olarak tespit edildi. ABD'de yapılan geniş kapsamlı bir çalışmada ise yüksek oranda (%9,0) kandidemi saptanmıştır (20).

Kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmaların sıklığı merkezlere göre değişmekle birlikte, KNS'ler KAI'nin önemli bir etkenidir. KNS'ler özellikle damar içi kateterlerin sıkça kullanılması sonucu, nozokomiyal bakteriyeminin başlıca nedenidir. Ancak en sık rastlanan kontaminant bakteri grubu olduklarından gerçek enfeksiyon ayrımı için ardışık alınan iki ve daha fazla kan kültür örneğinde pozitif KNS üremesi gereklidir (20). Bizim çalışmamızda, ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla uyumlu olarak %58,2 ile en sık izole edilen mikroorganizma KNS oldu.

Günümüzde metisiline dirençli stafilokok enfeksiyonları giderek artmaktadır. Metisilin dirençli stafilokok izolatlarının neden olduğu enfeksiyonların morbidite ve mortalitesinin yüksek olması, ek maliyet getirmesi, metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA)'nın önemini arttırmaktadır. Tedavide sefalosporinler ve karbapenemler gibi beta-laktamların sık kullanılması bu antibiyotiklere düşük afinite oluşmasına neden olmakta, böylece tedavide etkisiz hale gelebilmektedir (5, 9). KNS ve *S. aureus*'ların metisilin direnç oranlarını ülkemizde yapılan çalışmalarda sırası ile Şahin ve ark. %54,0 ve %44,0, Çopur Çiçek ve ark. %70,2 ve %50,0, Mehli ve ark. %77,3 ve %38,4, Yılmaz

ve ark. %28,4 ve %89,7 olarak bildirmişlerdir (5, 9, 13, 14). Yurtdışında yapılan çalışmalarda ise Custovic ve ark. cerrahi YBÜ'de 6 KAI içinde 1 MRSA tespit etmişler (22). Wisplinghoff ve ark. %75,0 KNS, %41,0 *S. aureus*, Edmond ve ark. %80,4 KNS, %44,1 *S. aureus*, Garg ve ark. ise %75,0 oranında MRSA tespit etmişlerdir (1, 20, 23).

Çalışmamızda enterokoklar en sık izole edilen üçüncü Gram pozitif bakteri grubudur. Tüm dünyada olduğu gibi bizim hastanemizde de bu mikroorganizmaların glikopeptidlere karşı geliştirdiği direnç önemli bir sorundur. Gastrointestinal sisteminde vankomisin dirençli enterekok (VRE) taşıyan hastalar en önemli endojen kaynaktır. Ancak hasta odalarındaki tıbbi cihazlar ve eşyalar, kolonizasyon yolu ile ekzojen rezervuarlar haline gelmektedir (24, 25). Çalışmamızda YBÜ'de yatan bir hastada VRE (%4,5) tespit edildi. Yapılan çalışmalarda VRE oranları bölgelere göre değişiklik göstermektedir. Kanada'da yapılan bir çalışmada %4,0 oranında VRE tespit etmişlerdir (25). Slovakya'da ve Suudi Arabistan'da yapılan çalışmada ise hiç vankomisin direncine rastlanmamıştır (26, 27). Ülkemizdeki araştırmalara baktığımızda ise Yılmaz ve ark. %1,39, Duman ve ark. %1,5, Willke ve ark. %2,1 oranlarında VRE bildirimini yapmışlardır (5, 17, 18).

Çalışmamızda Gram negatif bakterilerin içinde ilk sırayı *E. coli* izolatları almaktadır. Bunu sırasıyla *Acinetobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Brucella* spp. ve *P. aeruginosa* izolatları takip etmektedir.

*E. coli* ve *Klebsiella* spp.'nin sefalosporin grubundaki antimikrobiallere karşı duyarlılıklarına baktığımızda, en dirençli antimikrobiyalin seftazidim (*E. coli* %53,6, *Klebsiella* spp. % 90,0) olduğu göze çarpmaktadır. Bizimle benzer şekilde Yılmaz ve ark. *E. coli*'nin seftazidim direncini %45,1 bulmuşlar; *Klebsiella* spp. izolatlarında seftazidime direncini %56,0 ile bizim sonuçlarımıza göre daha duyarlı tespit etmişlerdir (5). Mehli ve ark. ise *E. coli*'de %32,83, *Klebsiella* spp.'de %30,76 tespit etmişlerdir (14). Çalışmamızda siprofloksasine karşı her iki bakteri türünde %40,0 oranında direnç belirlendi. Şahin ve ark.

siprofloksasine *E. coli* izolatlarında %46,0 oranında direnç bildirirken; *Klebsiella* spp. izolatlarında direnç saptamamışlardır (9). Garg ve ark. *Salmonella typhi* dışındaki enterik bakterilerde bizimle benzer oranda (%42,5) siprofloksasine karşı direnç gözlemlemişlerdir (1). Yılmaz ve ark. *E. coli* izolatlarında siprofloksasine karşı yüksek oranda (%62,0) direnç tespit etmişlerdir (5). Bizim hastanemizde seftazidime ve siprofloksasine karşı direnç oranının, diğer çalışmalara göre daha yüksek olması ampirik tedavide bu ilaçların sıklıkla kullanılmasından kaynaklanabileceğini düşündürdü.

Gram negatif bakterilerin tedavisinde sıklıkla kullanılan karbapenemlerin duyarlılık paternini incelediğimizde; *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* spp. izolatlarında imipenem direnci sırasıyla %11,1 ve %91,1 olarak bulundu. Gram negatif enterik bakterilerden yalnızca *Klebsiella* spp. izolatlarında %5,9 oranında karbapenemlere direnç saptandı. Ancak *E. coli*'de karbapenem direncine rastlanmadı. Bu sonuçlar ülkemizde yapılan çalışmalarla uyumlu gözükmektedir (5).

Çalışmamızda *Acinetobacter* spp.'de tespit edilen en duyarlı antibiyotik olan tigesikline direnç oranı %2,4 bulundu. Ülkemizde yapılan bir çalışmada Özdem ve ark. pek çok klinik örnekten izole ettikleri *Acinetobacter* spp. suşlarında ise tigesiklin direnç oranını %5,5 olarak bildirmişlerdir (29). Spiliopoulou

ve ark. yaptıkları çalışmada 8 yıllık verileri incelemişler ve *Acinetobacter baumannii* izolatlarında yıllar içinde tigesiklin direnç oranının %25,5'ten %66,5'e yükseldiğini görmüşlerdir (28). Bizim çalışmamızda *Acinetobacter* spp. suşlarında tigesiklin direnç oranını, ülkemizde ve özellikle yurt dışındaki çalışmalara göre çok düşük olduğunu görmekteyiz. Spiliopoulou ve ark. yaptıkları çalışmada *Acinetobacter baumannii* izolatlarında yıllar içinde tigesiklin direnç oranının önemli oranda arttığını göz önünde bulundurarak alarm durumunda olmamız gerektiğini düşünmekteyiz (28). *Acinetobacter* izolatlarının birçok antibiyotiğe karşı yüksek oranda çoklu direnç geliştirmeleri; tedavide kullanılan antimikrobiyal ajanların daha bilinçli ve kontrollü kullanılıp, infeksiyon kontrol önlemlerinin alınması gerektiğini göstermiştir.

Çalışmamızın sonucunda görülmüştür ki; kan kültürlerinden izole edilen bakteriler ve bu bakterilerin antimikrobiyal ilaçlara karşı geliştirdiği direnç oranları coğrafik bölgelere ve zamana göre değişkenlik gösterebilmektedir. Bu nedenle klinisyenlere yol göstermesi açısından ampirik tedavi protokollerinin güncellenmesi, doğru antibiyotik kullanımı için belirli zaman aralıklarında kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmaların dağılımını ve duyarlılık paternini gösteren çalışmaların yapılması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Garg A, Anupurba S, Garg J, Goyal RK, Sen MR. Bacteriological profile and antimicrobia resistance of blood culture isolates from a university hospital. JIACM, 2007; 8(2): 139-43.
2. Mathur P, Varghese P, Tak V et al. Epidemiology of blood stream infections at a level-1 trauma care center of India. J Lab Physicians, 2014; 6(1): 22-7.
3. Sax H, Eggimann P, Chevolet JC, Pittet D. Nosocomial blood stream infection and clinical sepsis Stéphane Hugonnet. Emerg Infect Dis, 2004; 10, 1.
4. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Blood stream infectious, Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2012; 778-97.
5. Yılmaz S, Gümral R, Güney M et al. İki yıllık dönemde kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkların değerlendirilmesi. Gulhane Tıp Derg, 2013; 55: 247-52.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S3 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 23rd Informational Supplement, 9th. CLSI, Wayne, PA (2013).

7. Ducl G, Hygie FJ. Fabry Université Claude-Bernard, Lyon, France L. Nicolle, University of Manitoba, innipeg, Canada prevention of hospital-acquired infections: a practical guide, 2nd edition, World Health Organization Department of Communicable Disease, Surveillance and Response WHO/CDS/CSR/EPH/.12, Geneva, Switzerland (2002).
8. Winn W, Allen S, Janda W et al. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Philadelphia: JB Lippincott, 2006; 98-9.
9. Şahin İ, Emel C, Öztürk E et al. Distribution of microorganisms in blood culture and antimicrobial susceptibility. Düzce Tıp Dergisi, 2013; 15(2): 11-4.
10. Demir M, Kaleli İ, Cevahir N, Mete E, Şengül M. İki yıllık kan kültür sonuçlarının değerlendirilmesi. İnfeksiyon Derg, 2003; 17: 297-300.
11. Vincent JL, Rello J, Marshall J, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. JAMA, 2009; 302(21): 2323-9.
12. Sharma DK, Tiwari YK, Vyas N, Maheshwari RK. An investigation of the incidence of nosocomial infections among the patients admitted in the intensive care unit of a tertiary care hospital in Rajasthan. Int J Curr Microbiol, 2013; 2(10): 428-35.
13. Çopur-Çiçek A, Şentürk-Köksal Z, Ertürk A, Köksal E. Rize 82. Yıl Devlet Hastanesi'nde bir yıllık sürede kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Turk Hij Den Biyol Derg, 2011; 68(4): 175-84.
14. Mehli M, Gayyurhan ED, Zer Y, Akgün S, Özgür Akın FE, Balcı İ. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. İnfeksiyon Dergisi, 2007; 21(3): 141-5.
15. Bakıcı Z, Kıvanç O, Kılavuz EM. Kan kültürlerinden izole edilen bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları. C.U. Tıp Fakültesi Dergisi, 2001; 23(2): 84-8.
16. Öksüz Ş, Yavuz T, Şahin İ, Yıldırım M, Akgünoğlu M, Kaya D et al. Kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 2008; 38(3-4): 117-21.
17. Duman Y, Kuzucu Ç, Cuğlan SS. Kan kültürlerinden izole edilen bakteriler ve antimikrobiyal duyarlılıkları. Erciyes Tıp Derg, 2011; 33(3): 189-96.
18. Willke A, Azak E. Kan kültüründen üreyen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları: üç yıllık sonuçlar. ANKEM Derg, 2011; 25(1): 26.
19. Ece G. Kan kültüründe üreyen izolatların dağılım ve antibiyotik duyarlılık profilinin incelenmesi. Haseki Tıp Bulteni, 2013; 151-6.
20. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial blood stream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nation wide surveillance study BSI in US Hospitals. CID, 2004; 39: 309-17.
21. Karchmer AW. Nosocomial blood stream infections: organisms, risk factors, and implications. CID, 2000; 31(4): 139-43.
22. Custovic A, Smajlovic J, Hadzic S et al. Epidemiological surveillance of bacterial nosocomial infections in the surgical intensive care unit. Mater Sociomed, 2014; 26(1): 7-11.
23. Edmond MB, Wallace SE, Mc Clish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP. Nosocomial blood stream infections in United States Hospitals: a three-year analysis. Clin Infect Dis, 1999; 29: 239-44.
24. Gözübüyük G, Uyanık MH, Hancı H, Aktaş O, A Özbek. Kan kültürlerinden izole edilen enterokokların antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Derg, 2013; 27(3): 107-12.
25. Billington EO, Phang SH, Gregson DB et al. Incidence, risk factors, and outcomes of *Enterococcus* spp. blood stream infections: a population-based study. IJID, 2014; 1929: 1-7.
26. Blahova J, Kralikova K, Krcmery V Sr et al. Four years of monitoring antibiotic resistance in microorganisms from bacteremic patients. J Chemother, 2007; 19(6): 665-9.
27. Al-Tawfiq JA, Abed MS. Prevalence and antimicrobial resistance of health care associated blood stream infections at a general hospital in Saudi Arabia. Saudi Med J, 2009; 30(9): 1213-8.
28. Spiliopoulou A, Jelastopulu E, Vamvakopoulou S, Bartzavali C, Kolonitsiou F, Anastassiou ED et al. In vitro activity of tigecycline and colistin against *A. baumannii* clinical blood stream isolates during an 8-year period. J Chemother, 2014; 14: 19.
29. Özdem B, Gürel FC, Çelikkale N, Balıkcı H, Açıkgöz ZC. Çeşitli klinik örneklerden 2007-2010 yıllarında izole edilen *Acinetobacter* türlerinin antibiyotik direnç profilleri. Mikrobiyol Bul, 2011; 45(3): 526-34.

## Çorum Bölgesi kan bağışçılarında HBsAg, anti-HCV, HIV ve VDRL seropozitiflik oranları

### Seropositivity rates of HBsAg, anti-HCV, HIV and VDRL in blood donors in Corum, Turkey

Ayşe Semra GÜRESER<sup>1,2</sup>, Semra ÖZÇELİK<sup>3</sup>, Zehra İlkay BOYACIOĞLU<sup>1</sup>,  
Leyla ÖZÜNEL<sup>1</sup>, Ünver YILDIZ<sup>1,3</sup>, Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN<sup>1,2,3</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, bir orta Anadolu şehri olan Çorum'da; kan bağışçılarında bakılması zorunlu enfeksiyon göstergeleri olan hepatit B yüzey antijeni (HBsAg), hepatit C virüsü antikor (anti-HCV), insan immün yetmezlik virüsü (HIV1 /2) antijen/antikoru ve Venereal Hastalık Araştırma Laboratuvarı (VDRL) testlerinin pozitif olma sıklığını ve yıllara göre dağılımını saptamaktır.

**Yöntemler:** Ocak 2008-Eylül 2013 tarihleri arasında Hitit Üniversitesi Çorum Eğitim ve Araştırma Hastanesi Transfüzyon Merkezine başvuran 13.780 kan bağışçısı örneği retrospektif olarak HBsAg, anti-HCV, HIV 1/2 antijen/antikoru ve VDRL bulguları, yıllara ve cinsiyete göre dağılımı açısından sorgulandı. HBsAg, anti-HCV, HIV 1/2 testleri kemilüminesan mikropartikül enzim immünassay yöntemi (Architect, Abbott Diagnostics cihazı-ABD; Abbott Diagnostics kitleri HBsAg İrlanda, anti-HCV-Almanya, HIV Ag/Ab Combo-Almanya) ile çalışıldı. HIV pozitifliği saptanan bağışçı örnekleri Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı'nda, western blot (WB) yöntemi ile doğrulandı. Sifiliz tarama testleri ise VDRL (Plasmatec Laboratory Products- İngiltere) yöntemi ile değerlendirildi.

**Bulgular:** 13.780 kan bağışçısının 856 (%6,2)'sı kadın, 12.924 (%93,8)'ü erkek olup, yaşları 18-60 arasında değişmekteydi. Bağışçıların 136 (%0,99)'sında HBsAg, 47 (%0,34)'sinde anti-HCV, 11 (%0,08)'inde HIV

#### ABSTRACT

**Objective:** The purpose of this study is to determine the frequency and distribution of the hepatitis B surface antigen (HBsAg), hepatitis C virus antibody (anti-HCV), human immunodeficiency virus (HIV-1/2antigen/antibody) and Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) seropositivity, some of the mandatory tests in blood donors, among years, in Corum - a Turkish mid-Anatolian city.

**Methods:** 13.780 blood donor samples admitted to the Transfusion Center of Hitit University, Çorum Training and Research Hospital, between January 2008 and September 2013, were included in the study. Donor samples were analyzed using HBsAg, anti-HCV and HIV 1/2 ag/ab, VDRL tests and findings were analyzed retrospectively among years and by gender. For HBsAg, anti-HCV and HIV 1/2 tests, chemiluminescent microparticle enzyme immunoassay (Architect, Abbott Diagnostics, USA) method is applied by using Abbott Diagnostics kits (HBsAg- Ireland, anti-HCV-Germany, HIV Ag / Ab Combo-Germany). Anti-HIV positive samples were sent to the Department of Microbiology Reference Laboratory in Public Health Institution of Turkey, in order to confirm the samples by using Western Blot Method (WB). Syphilis screening tests were performed by using VDRL tests (Plasma Tec Laboratory Products- United Kingdom).

**Results:** Among total of 13.780 blood donors; 856 (6.2%) were female, 12.924 (93.8%) were male and

<sup>1</sup> Hitit Üniversitesi, Çorum Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, ÇORUM

<sup>2</sup> Hitit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ÇORUM

<sup>3</sup> Hitit Üniversitesi, Çorum Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kan Transfüzyon Merkezi, ÇORUM



İletişim / Corresponding Author : Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN

Hitit Üni. Tıp Fak., Tıbbi Mikrobiyoloji A.D; Hitit Üni., Çorum Eğitim ve Araş. Hast., Mikrobiyoloji Lab., ÇORUM

Tel : +90 312 458 24 74

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

Geliş Tarihi / Received : 10.12.2014

Kabul Tarihi / Accepted : 28.03.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.30974

Güreser AS, Özçelik S, Boyacıoğlu Zİ, Özünel L, Yıldız Ü, Taylan-Özkan A. Çorum Bölgesi kan bağışçılarında HBsAg, anti-HCV, HIV ve VDRL seropozitiflik oranları. Turk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(2): 123-30.

1/2 ag/ab ve 12 (%0,09)'sinde VDRL pozitif olarak bulunmuştur. HIV 1/2 ag/ab pozitifliği belirlenen örnekler WB ile negatif olarak saptanmıştır. HBsAg kadın bağışçıların altı (%0,7)'sında, erkek bağışçıların 130 (%1,01)'unda, VDRL kadın bağışçıların üç (%0,35)'ünde, erkek bağışçıların dokuz (%0,07)'unda pozitif olarak belirlenmiştir. Anti-HCV ve HIV 1/2 ag/ab testleri tüm kadın bağışçılarda negatifken erkek bağışçılarda sırasıyla 47 (%0,36) ve 11 (%0,09) kişide pozitif bulunmuştur. HBsAg'nin kadın ve erkeklerde saptanma oranları arasında fark olmadığı görülürken ( $p=0,47$ ), pozitif kadın bağışçı sayısının az olması nedeniyle diğer parametreler için istatistiksel analiz yapılamamıştır. HBsAg pozitiflik oranlarında 2012 ve 2013 yıllarında, sifiliz pozitiflik oranlarında ise 2010 yılı sonrasında azalma olduğu görülmüştür.

**Sonuç:** Transfüzyon Merkezimizde alınan; donör sorgulama formunun etkin bir şekilde doldurulması ve donör seçim kriterlerine titizlikle uyulması gibi önlemler nedeniyle Transfüzyon Merkezimize başvuran kan bağışçılarındaki saptanan HBsAg, anti-HCV, HIV ve VDRL seropozitiflik oranları ülkemizden bildirilen diğer oranlardan düşük olarak bulunmuştur. Bölgesel karşılaştırmaların yapılabilmesi için, ilimiz genelinde Hepatit B, Hepatit C, HIV ve sifiliz seroprevalansı konusunda çalışmalar yapılması yararlı olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Kan bağışçıları, HBsAg, anti-HCV, HIV, VDRL seroprevalansı

ages ranged between 18 and 60. Seropositivity rates for HBsAg, anti-HCV, HIV and VDRL were determined as 0.99% (136), 0.34% (47), 0.08% (11) and 0.09% (12), respectively. All HIV-1/2 positive detected samples were retested using WB method and without exception they were negative. HBsAg were determined as positive in 0.7% (6) of female, 1.01% (130) of male donors and VDRL results in 0.35% (3) of female, 0.07% (9) of male donors. Female donors' samples were detected as negative for anti-HCV and HIV-1/2 ag/ab tests, but male donors has positivity of 0.36% (47) and 0.09% (11), respectively. There was no significant correlation between HBsAg positivity and gender ( $p=0.47$ ). Since the number of women donors is quite low, statistical analyses could not be performed for other parameters. It was found that HBsAg positivity rate decreased in 2012 and 2013, and the syphilis positivity rate decreased after 2010.

**Conclusion:** Consequently, HBsAg, anti-HCV, HIV and syphilis seropositivity rates were significantly lower than in many other publications reported in our country, due to the preventions taken in our Transfusion Center like effective questionnaire to be filled out by donors and follow donor selection criteria scrupulously. As a further study recommendation, it would be useful to investigate hepatitis B, hepatitis C, HIV and syphilis seroprevalence in Çorum region, for comparing results among different regions.

**Key Words:** Blood donors, HBsAg, anti-HCV, HIV, VDRL seroprevalance

## GİRİŞ

Kan ve kan ürünleri transfüzyonu hayat kurtarıcı olmasının yanı sıra, alıcıya kan yoluyla mikroorganizma bulaşması gibi komplikasyonlara yol açabilmektedir. Transfüzyon yoluyla mikroorganizma bulaşından korunmada bağışçı seçim kriterlerine dikkat edilmesi ve bağışçı kanlarının riskli etkenler açısından uygun yöntemlerle taranması önemlidir. Pek çok mikroorganizma transfüzyonla bulaşabilmesine rağmen, enfeksiyonun erken evresinde (pencere döneminde) serolojik tanı belirteçlerinin negatif olması nedeniyle en önemli probleme virüsler yol açmaktadır (1).

Kan bağışçılarına her ülkede farklı standart tarama testleri uygulanmakta olup ülkemizde kan bankacılığı hizmetlerinin yürütülmesi 2 Mayıs 2007 tarihinde çıkan "Kan ve Kan Ürünleri Kanunu" ve 4 Aralık 2008 tarihinde çıkan "Kan ve Kan Ürünleri Yönetmeliği" ne göre yapılmaktadır. Kan ve kan ürünleri yönetmeliğine göre hepatit B virüsü yüzey antijeni (HBsAg), hepatit C virüsü antikoru (anti-HCV), insan immünyetmezlik virüsü (HIV 1/2) ve sifiliz tarama testlerinin bağışçı kanlara uygulanması zorunlu olup, Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'de ayrıca bu testlerin nakil için alınan tüm kanlarda taranması gerektiğini belirtmektedir (2).



Bağışçı kanlarında araştırılması zorunlu olan hepatit B virüsü (HBV) ve hepatit C virüsü (HCV) dünyada sık görülen, başlıca parenteral, cinsel temas, perinatal ve horizontal yolla bulaşabilen, siroz ve/veya hepatosellüler karsinoma yol açabilen enfeksiyon etkenleridir (3). Bölgelere ve yıllara göre değişiklik göstermekle birlikte ülkemizde sağlıklı bireylerde HBsAg pozitifliği %2,4 - 9 arasında, anti-HCV pozitifliği %1 - 2,2 arasında rapor edilmektedir (4 - 6).

Dünyada 2012 yılı itibariyle toplam 35.3 milyon kişi HIV virüsü taşımakta olup bunların büyük kısmı Sahra altı Afrika ülkelerinde yaşamaktadır (7). Ülkemizde ise Sağlık Bakanlığı'nın Aralık 2012 verilerine göre 6.188 HIV/AIDS olgusu mevcuttur (8).

Bağışçı kanlarında sorgulanması gereken bakteriyel etkenlerden *Trepanoma pallidum*'un buzdolabında 72 saati geçen kanlarda enfektivitesini kaybetmesi, posttransfüzyonel sifilizin çok nadir görülmesi, bulaş olsa da tedavisinin kolay olmasına karşın sifiliz varlığının cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar açısından bir gösterge olduğu düşünülerek ülkemizde taranması zorunlu patojenler arasına alınmıştır (9).

Çalışmamızda, transfüzyon yoluyla bulaşan ve ciddi patolojilere yol açan bu enfeksiyon etkenlerinin Transfüzyon Merkezimize başvuran bağışçılardaki sıklığını ve yıllara göre dağılımını retrospektif olarak saptamak amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Ocak 2008-Eylül 2013 arasında Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi Çorum Eğitim ve Araştırma Hastanesi Transfüzyon Merkezi'ne başvuran ve bağışçı sorgulama formu sonrası bağışçı olmaya uygun bulunarak kanları alınan 13.780 kan bağışçısı çalışmaya dahil edilmiştir.

Bağışçılara ait serum örneklerinin HBsAg, anti-HCV, HIV 1/2 testleri kemilüminesan mikropartikül enzim immünoassay yöntemi (Architect, Abbott

Diagnostics cihazı, ABD; Abbott Diagnostics kitleri HBsAg- İrlanda, anti-HCV- Almanya, HIVAg/Ab Combo, Almanya) ile değerlendirilmiştir. Pozitif olarak saptanan örnekler aynı yöntem ve kitler ile ikinci kez çalışmış, HIV 1/2 pozitifliği saptanan serum örnekleri doğrulama testi için Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığına gönderilmiştir. Sifiliz tarama testleri ise VDRL (Plasmatec Laboratory Products- İngiltere) yöntemi ile çalışılmıştır.

Bağışçılar HBsAg, anti-HCV, HIV 1/2 ve VDRL bulguları açısından retrospektif olarak sorgulanarak, bu parametreler için pozitiflik oranları, bunların cinsiyete ve yıllara göre dağılımı irdelenmiştir. Verilerin istatistiksel analizi Binary Binominal Hipotez testi kullanılarak Minitab istatistik programında yapılmış, p değeri <0.05 olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## BULGULAR

13.780 kan bağışçısının 856 (%6,2)'sı kadın, 12.924 (%93,8)'ü erkekti. Kan bağışçılarının yaş aralığı 18-60 arasında değişmekteydi.

Bağışçıların 136 (%0,99)'sında HBsAg pozitif, 47 (%0,34)'sinde anti-HCV pozitif, 11 (%0,08)'inde HIV 1/2 ag/ab pozitif, 12 (%0,09)'sinde VDRL testi pozitif olarak saptanmıştır. HIV 1/2 ag/ab pozitif bulunan 11 bağışçının serum örnekleri Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Referans Laboratuvarlarında konfirme edilmemiştir. Kan bağışçılarındaki pozitif bulunan HBsAg, anti-HCV, HIV 1/2 ve VDRL sonuçlarının yıllara göre dağılımı Tablo 1'de, seropozitiflik oranlarının cinsiyete göre dağılımı ise Tablo 2'de gösterilmektedir.

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda; serolojik testlerin pozitif olarak saptanmasında, farklı yılların herhangi bir etkisi (trend, cluster, blok veya faktör etkisi) olmadığı gözlenmiştir. Bu nedenle tüm yılların verileri toplanarak kümülatif değerlerin

**Tablo 1.** Ocak 2008 - Eylül 2013 arasında Hitit Üniversitesi Çorum Eğitim ve Araştırma Hastanesi Transfüzyon Merkezindeki kan bağışçılarında saptanan HBsAg, anti-HCV, HIV 1/2 ag/ab ve VDRL sonuçlarının yıllara göre dağılımı

YILLAR	DONÖR SAYISI	HBsAg (+)		Anti-HCV (+)		HIV1/2 ag/ab(+)*		VDRL (+)		
		n	%	n	%	n	%	n	%	
2008	3.949	KADIN	3	7,14	-	-	-	-	3	50,0
		ERKEK	39	92,86	8	100,0	7	100,0	3	50,0
		<b>TOPLAM</b>	<b>42</b>	<b>1,06</b>	<b>8</b>	<b>0,20</b>	<b>7</b>	<b>0,18</b>	<b>6</b>	<b>0,15</b>
2009	6.466	KADIN	2	3,13	-	-	-	-	-	-
		ERKEK	62	96,88	27	100,0	2	100,0	4	100,0
		<b>TOPLAM</b>	<b>64</b>	<b>0,99</b>	<b>27</b>	<b>0,42</b>	<b>2</b>	<b>0,03</b>	<b>4</b>	<b>0,06</b>
2010	2.238	KADIN	1	4,00	-	-	-	-	-	-
		ERKEK	24	96,00	10	100,0	1	100,0	2	100,0
		<b>TOPLAM</b>	<b>25</b>	<b>1,12</b>	<b>10</b>	<b>0,45</b>	<b>1</b>	<b>0,04</b>	<b>2</b>	<b>0,09</b>
2011	223	KADIN	-	-	-	-	-	-	-	-
		ERKEK	3	100,0	1	100,0	-	-	-	-
		<b>TOPLAM</b>	<b>3</b>	<b>1,35</b>	<b>1</b>	<b>0,45</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
2012	303	KADIN	-	-	-	-	-	-	-	-
		ERKEK	1	100,0	1	100,0	-	-	-	-
		<b>TOPLAM</b>	<b>1</b>	<b>0,33</b>	<b>1</b>	<b>0,33</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
2013	601	KADIN	-	-	-	-	-	-	-	-
		ERKEK	1	100,0	-	-	1	100,0	-	-
		<b>TOPLAM</b>	<b>1</b>	<b>0,17</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>1</b>	<b>0,17</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>TOPLAM</b>	<b>13.780</b>	<b>KADIN</b>	<b>6</b>	<b>4,41</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>3</b>	<b>25,0</b>
		<b>ERKEK</b>	<b>130</b>	<b>95,59</b>	<b>47</b>	<b>100,0</b>	<b>11</b>	<b>100,0</b>	<b>9</b>	<b>75,0</b>
		<b>TOPLAM</b>	<b>136</b>	<b>0,99</b>	<b>47</b>	<b>0,34</b>	<b>11</b>	<b>0,08</b>	<b>12</b>	<b>0,09</b>

\* HIV 1/ 2 pozitifliği WB testi ile konfirme edilmemiştir.

cinsiyete göre dağılımı, Binary Binominal Hipotez testi kullanılarak analiz edilmiştir. HBsAg testi dışındaki parametreler için pozitif saptanan kadın örneklem büyüklüğünün yetersizliğinden dolayı, güven aralığı analizinin istatistiksel olarak sağlıklı olamayacağı sonucuna varılması nedeniyle istatistiksel analiz yapılamamıştır. HBsAg testi için yapılan analizde ise, kadın ve erkek bağışçılarda pozitif saptanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptanmıştır ( $p= 0,47$ ).

**Tablo 2.** Ocak 2008 - Eylül 2013 arasında Hitit Üniversitesi Çorum Eğitim ve Araştırma Hastanesi Transfüzyon Merkezindeki kan bağışçılarında saptanan seropozitiflik oranlarının cinsiyete göre dağılımı

	KADIN (n= 856)		ERKEK (n= 12.924)	
	n	%	n	%
HBsAg(+)	6	0,70	130	1,01
Anti-HCV(+)	0	0,00	47	0,36
HIV 1 / 2 * ag/ab(+)	0	0,00	11	0,09
VDRL(+)	3	0,35	9	0,07
<b>TOPLAM</b>	<b>9</b>	<b>1,05</b>	<b>197</b>	<b>1,52</b>

\* HIV 1/2 pozitifliği WB testi ile konfirme edilmemiştir.

Tablo 3. Ülkemizde son on yılda kan bağışçılarında HBV, HCV, HIV ve Sifilizseroprevalansı

YILI	YAZARI	BÖLGESİ	BAĞIŞÇI SAYISI	HBsAg %	Anti-HCV %	HIV %	VDRL %
2004	Temiz ve ark (10)	Diyarbakır	79.245	3,6	0,59	0	0,14
	Mutlu ve ark (11)	Kocaeli	29.049	2,3	0,37	0	0,02
2005	Ocak ve ark (12)	Hatay	12.313	2,02	0,52	0	0,03
2006	Gül ve ark (13)	Kahramanmaraş	4.107	1,26	0,24	0	0
	Aydınlı ve ark (14)	İstanbul	220.401	2,39	0,35	0,003	0,19
2007	Dilek ve ark (15)	Van	39.002	2,55	0,17	0,036	0,057
	Altındış ve ark (16)	Afyonkarahisar	37.253	1,91	0,33	0	0,096
2008	Uzun (17)	İstanbul	19.499	2,06	0,28	0,01	0,2
	Kaya (18)	Trabzon	12.092	1,6	0,2	0	0,001
2009	Kaya ve ark (19)	Isparta	51.361	1,1	0,44	0,09	0,08
	Balcı ve ark (20)	Denizli	13.334	1,3	0,5	0,023	0,13
2010	Yakut ve ark (21)	Ankara	104.011	1,96	0,59	0,18	0,02
	Ulutürk (22)	İstanbul	75.757	2,83	0,4	0,0013	0,16
2011	Altındış ve ark (23)	Afyonkarahisar	37.343	1,38	0,35	0	0,04
	Öner ve ark (24)	Mersin	30.716	2,2	0,4	0,2	0,1
2012	Bulut ve ark (25)	Tokat	15.696	1,29	0,16	0	0,02
	Çelebi ve ark (26)	Erzurum	204.000	3,14	0,92	0,002	2,33
2013	Uzun ve ark (27)	İzmir	80.454	1,31	0,38	0,002	0,04

## TARTIŞMA

Tıp bilimindeki tüm gelişmelere rağmen kan ve kan ürünlerinin yapay olarak laboratuvar ortamında üretilmemiş olması nedeniyle kan temininde sağlıklı bağışçılarının seçimi geçmişte olduğu kadar günümüzde de önem taşımaktadır. Transfüzyon güvenliğini sağlamak için ilk etap kan bağışçısının sorgulanarak fizik muayenesinin yapılması, sonraki etap da enfeksiyon etkenlerinin bağışçı kanında taranmasıdır (2). Tarama testleri ve alınan diğer önlemler sayesinde günümüzde kan bağışları geçmişe oranla daha güvenilir şekilde yapılmaktadır. Ancak pencere dönemindeki bağışlar, varyant virüsler, atipik serokonversiyon ve laboratuvar hataları gibi sebeplerle özellikle viral enfeksiyon bulaşma riskini sınırlamak mümkün değildir (1).

Transfüzyon sonrası hepatit etkenlerinden olan HBV virüsü ülkemizde bölgelere ve yıllara göre değişmekle birlikte, sağlıklı populasyonda %2,4 - 9 arasında değişen oranlarda saptanmaktadır (4, 5). Geçirilmiş sarılık öyküsü olanlar kan bağışçısı olarak kabul edilmediği için bu oranların bağışçı populasyonda daha düşük olması beklenmektedir.

Ülkemizde son on yılda kan bağışçılarındaki çalışmalar incelendiğinde (Tablo 3); bölgelere göre değişiklik göstermekle birlikte kan bağışçılarında HBsAg saptanma oranlarının %1,1 - 3,6 arasında olduğu gözlenmektedir (10-27). Bizim çalışmamızda HBsAg pozitiflik oranlarında, 2012 ve 2013 yıllarında azalma bulunduğu ve %0,99'luk bir ortalama ile ülkemizdeki değerlerden düşük olduğu saptanmıştır. Kadınlardaki HBsAg pozitiflik oranı %0,7 iken

erkeklerde biraz daha yüksek olarak (%1,01) tespit edilmiş olup, kadın ve erkek bağışçılarda pozitiflik oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptanmıştır ( $p= 0,47$ ).

HBV'ye göre daha düşük bir prevalans gösteren HCV, bilinen hepatit etkenleri içinde kronikleşme eğilimi en fazla olan virüstür. Kronikleşen olguların en az %25'inde siroz ve hepatosellüler karsinom gelişir (28). Ülkemizde HCV pozitifliği sağlıklı bireylerde %1 - 2,2 arasında bildirilirken, kan bağışçılarında %0,16 - 0,92 arasında rapor edilmektedir (4, 6, 25, 26). Tablo 3'de de görülebileceği gibi, anti-HCV saptanma oranları bağışçılarda %1'in altındadır. Çalışmamızda da ülkemiz ortalamaları ile uyumlu şekilde anti-HCV saptanma oranı %0,34 olarak bulunmuştur. Anti-HCV saptanan hastaların tümünün erkek hastalar olduğu görülmüş olup, kadın bağışçı sayısının az olmasının bu farklılığa yol açtığı düşünülmüştür. Anti HCV testi için, yetersiz pozitif çıkan kadın örneklem büyüklüğü nedeniyle güven aralığı analizi istatistiksel olarak sağlıklı olmayacağı için istatistiksel analiz yapılamamıştır. Ülkemizde bağışçı kanlarında HIV testi transfüzyon merkezlerinde hızlı ve ekonomik olması nedeniyle ELISA yöntemi ile çalışılmakta, pozitif sonuçlar şüpheli (grayzone) olanlar da dahil daha özgül bir test olan Western Blot (WB) ile doğrulanmaktadır. Kan bağışçılarında HIV pozitifliği %0 - 0,2 arasında değişen oranlarda bildirilmektedir (10 - 27). Çalışmamızda 11 (%0,08) hastada HIV ag/ab testi kemilüminesan mikropartikül enzim immünoassay ile reaktif bulunmuş olup WB ile yapılan doğrulama testi sonucu tüm hastaların negatif olduğu belirlenmiştir.

Son yıllarda bağışçı kanlarında, nükleik asit amplifikasyon teknolojisi (NAT) ile viral nükleik asit varlığı, DNA veya RNA saptanabilmektedir. Özellikle HBV, HCV ve HIV için pencere dönemindeki vakaları saptamanın yanı sıra, doğrulama amacı ile de kullanılabilen bu yöntem, bağışçıların tek tek taranması yerine bir havuz oluşturulup her bağışçıdan alınan kan numunesinin bu havuza dahil edilerek çok sayıda bağışçı serumunun çalışılmasına

da olanak tanımaktadır (2). Ancak maliyeti yüksek olması nedeniyle rutin tarama testi olarak henüz kan merkezimizde kullanılmamakla birlikte, tespit ettiğimiz viral seropozitiflik oranları ileriki yıllarda elde edilecek NAT testi sonuçları ile karşılaştırma yapılmasına da olanak sağlayabilecektir.

Kan ve kan ürünleri transfüzyonu sonucu sifilizin bulaşma riski, etkenin buzdolabında 72 saati geçen kanlarda enfektivitesini kaybetmesi nedeniyle düşüktür. Ancak sifiliz varlığının diğer cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar açısından bir gösterge olması nedeniyle bağışçı kanlarında taranması gereken patojenlerdendir (9). Ulusal Kan ve Kan Ürünleri Rehberi'ne göre, kan bağışçılarında sifiliz taramasında manuel veya otomatize bir sistemde, lesitin bazlı bir antijen içeren kardiyolipin testi veya *Treponema pallidum* hemaglütinasyon (TPHA) yöntemine dayalı bir test kullanılması önerilmekte, pozitif tarama sonuçlarının TPHA veya immünblot testler ile doğrulanması gerekmektedir (29).

Bağışçılarda ülkemizde %0 - 2,33 arasında değişen VDRL pozitiflik oranları bildirilmektedir (10 - 27). Bizim çalışmamızda saptanan %0,09'luk oran ülkemiz yüzdeleri ile uyumludur. Çalışmamızda VDRL pozitif hastaların özellikle 2008, 2009 ve 2010 yıllarında tespit edildiği, 2010 sonrasındaki bağışçı kanlarında VDRL pozitifliğinin saptanmadığı görülmüştür. Bunun sebebi özellikle 2010 sonrasında Transfüzyon Merkezimizde bağışçı sorgulama kriterlerine sıkı bir şekilde uyulması, kriterlere uymayan bağışçıların kabul edilmemesi olabilir. VDRL pozitiflik oranı kadınlarda %0,35 iken erkeklerde %0,07 oranında belirlenmiştir. VDRL testi için yetersiz pozitif çıkan kadın örneklem büyüklüğü nedeniyle güven aralığı analizi istatistiksel olarak sağlıklı olmayacağı için istatistiksel analiz yapılamamıştır. Çalışmamızda pozitif çıkan VDRL tarama sonuçları spesifik trepanomal testler (TPHA veya immünblot testler) ile doğrulanmadığı için ne kadarının yalancı pozitiflik olduğu da saptanamamıştır. Sonuç olarak; Transfüzyon Merkezimize başvuran kan bağışçılarında saptanan HBsAg, anti-HCV, HIV ve

VDRL seropozitiflik oranları ülkemizden bildirilen diğer yayınlar ile uyumlu, pek çok merkeze göre de daha düşük olarak bulunmuştur. Cinsiyete göre dağılım incelendiğinde ise HBV'nin kadın ve erkek bağışçılarda pozitif saptanma oranları arasında fark olmadığı saptanmıştır ( $p=0,47$ ). HCV, HIV ve VDRL testleri için pozitif kadın örneklem sayısı yetersiz olması nedeniyle istatistiksel analiz yapılamamıştır. Transfüzyon Merkezimizde alınan önlemler, donör sorgulama formunun etkin bir şekilde doldurulması ve donör seçim kriterlerine titizlikle uyulması bağış öncesinde bu etkenlere sahip bağışçıların

elenmesine ve saptadığımız bu oranların düşük olmasına yol açmış olabilir. Ayrıca ülkemizde 1988 yılından itibaren HBV aşısı kullanılmaya başlanmıştır. Risk gruplarının aşılınmış olması ve toplum bilincinin artması, HBV'nin pek çok merkezden daha düşük prevalansta saptanmasına katkı sağlamış olabileceği düşünülmektedir.

Bölgesel karşılaştırmaların yapılabilmesi için, ilimiz genelinde sağlıklı bireylerde de Hepatit B, Hepatit C, HIV ve sifiliz seroprevalansı konusunda çalışmalar yapılması yararlı olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Karadeniz A, Çağatay AA. Kan transfüzyonu ile bulaşan infeksiyöz etkenler. Yoğun Bakım Derneği Derg, 2005; 3(2): 25-34.
2. Dhingra N. Screening for transfusion-transmissible infections. Screening donated blood for transfusion-transmissible infections: Recommendations. World Health Organization, 2009.
3. Hahne SJM, Veldhuijzen IK, Wiessing L, Lim TA, Salminen M, Laar M. Infection with hepatitis B and C virus in Europe: a systematic review of prevalence and cost-effectiveness of screening. BMC Infect Dis, 2013; 13: 181.
4. Akcam FZ, Uskun E, Avsar K, Songur Y. Hepatitis B virus and hepatitis C virus sero prevalence in rural areas of the out hwestern region of Turkey. Int J Infect Dis, 2009; 13: 274-84.
5. Degertekin H, Tuzcu A, Yalçın K. Horizontal transmission of HBV infection among students in Turkey. Public Health, 2000; 114: 411-12.
6. Demirtürk N, Demiral T, Toprak D, Altındış M, Aktepe OC. Bir üniversite hastanesine rutin sağlık kontrolü için başvuranlarda hepatit B ve C virus seroprevalansı. Turk J Gastroenterol, 2006; 17 (4): 267-72.
7. Sidibé M. Introduction, Global report, UNAIDS report on the global AIDS epidemic, 2013.
8. T.C Sağlık Bakanlığı HIV/AIDS Veri Tabloları. 01 Ekim 1985-31 Aralık 2012. Ankara: Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Bulaşıcı ve Salgın Hastalıkların Kontrolü Daire Başkanlığı, Zührevi Hastalıklar Şubesi, 2013.
9. Kocazeybek B. Kan ve kan ürünleriyle bulaşan infeksiyonlar: rutin tarama testleri ve moleküler tanı yöntemleri. Cerrahpaşa Tıp Derg, 2003; 34: 158-63.
10. Temiz H, Nergiz Ş, Özbek E, Gedik M, Meşe S, Gül K. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kan Merkezine başvuran donörlerden alınan kanların HBsAg, anti-HCV, anti-HIV ve sifiliz yönünden değerlendirilmesi. Viral Hepatit Derg, 2004;9(3): 166-9.

11. Mutlu B, Meriç M, Willke A. Kan donörlerinde hepatit B ve C virüsü, İnsan immün yetmezlik virüsü ve sifiliz seroprevalansı. *Mikrobiyol Bul*, 2004; 38: 445-8.
12. Ocak S, Duran N, Savaş L, Önlen Y, Dibek MA. Hatay bölgesindeki Kan donörlerinde HBV, HCV, HIV ve VDRL seropozitifliği. *Viral Hepatit Derg*, 2005; 10(1): 49-53.
13. Gül M, Çıragil P, Aral M, Doğramacı N. Gönüllü ve gönüllü olmayan kan donörlerinde HBV, HCV, HIV ve sifiliz tarama test sonuçlarının değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2006; 36(1): 35-9.
14. Aydınlı A, Coşkun D, Aytaç J. Florence Nightingale Hastanesi kan donörlerinde yedi yıllık rutin tarama sonuçları. *Mikrobiyol Bul*, 2006; 40:143-7.
15. Dilek İ, Demir C, Bay A, Akdeniz H, Öner AF. Seropositivityrates of HBsAg, anti-HCV, anti-HIV and VDRL in blood donors in Eastern Turkey. *Turk J Hematol*, 2007; 24: 4-7.
16. Altındış M, Kalaycı R, Koçođlu F, Aktepe OC. Afyonkarahisar ili kan donörlerinde beş yıl süre ile enfeksiyon etkenlerinin araştırılması. *Kocatepe Tıp Derg*, 2007; 8(2): 1-4.
17. Uzun C. Kan donörlerinde HbsAg, anti-HCV, anti-HIV ve RPR sonuçlarının değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2008; 38(3-4): 143-6.
18. Kaya S. Kan donörlerinde hepatit B virusu, hepatit C virusu ve insan immün yetmezlik virüsü enfeksiyonu ve sifiliz sıklığı. *Klimik Derg*, 2008; 21(2): 65-8.
19. Kaya S, Alanođlu G, Polat M, Sipahi T. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi kan merkezinin 2000-2007 yılları tarama test sonuçları. *SDÜ Tıp Fak Derg*, 2009; 16(2):13-5.
20. Balcı YI, Polat Y, Övet G, Karabulut A, Göncü F, Yıldırım K. Denizli Devlet Hastanesi Kan Bankasına başvuran kan vericilerin HBsAg, anti-HCV, anti-HIV ve VDRL tarama sonuçlarının değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Derg*, 2009; 23(3): 117-9.
21. Yakut U, Güney M, Doğanay ÜD, Koçak A, Avcı İY. Bir kan merkezinde bağışçılara uygulanan mikrobiyolojik tarama testleri sonuçlarının on yıllık değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2010; 40(3): 201-6.
22. Ulutürk R. Kan donörlerinde yapılan rutin tarama testlerinin 11 yıllık değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2010; 40(1): 41-7.
23. Altındış M, Aslan S, Kalaycı R. Kan vericilerde HBsAg, anti-HCV, anti-HIV ve sifiliz seroprevalansı. *Sakarya Med J*, 2011; 1: 22-26.
24. Öner S, Yapıcı G, Şaşmaz CT, Kurt AÖ, Buğdaycı R. Hepatitis B, hepatitis C, HIV, and VDRL seroprevalence of blood donors in Mersin, Turkey. *Turk J Med Sci*, 2011; 41(2): 335-41.
25. Bulut N, Yenişehirlı G, Bulut Y. Tokat İli kan donörlerinde hepatit B, hepatit C, HIV ve sifiliz seroprevalansı. *Viral Hepatit Derg*, 2012; 18(1): 11-4.
26. Çelebi D, Çelebi Ö, Altoparlak Ü, Kök AN. Kan donörlerinde HBsAg, anti-HCV, anti-HIV, sifiliz seroprevalansı ve macro-ELISA sonuçlarının optik dansite değerleri ile doğrulama testlerinin karşılaştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2012; 42(4): 137-41.
27. Uzun B, Gungor S, Demirci M. Seroprevalence of transfusion transmissible infection samong blood donors in western part of Turkey: A six-years study. *Transfus Apher Sci*, 2013; 49(3): 511-5.
28. Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int*, 2009; 29(19): 74-81.
29. TC. Sağlık Bakanlığı Ulusal Kan ve Kan Ürünleri Rehberi, Türkiye Kan Merkezleri ve Transfüzyon Derneği, İstanbul, Mikrobiyolojik tarama testleri, 2011: 261-4.

# Investigation of three different methods for detection of ESBL production and antibiotic resistance percentage of ESBL producing Gram negative bacteria

## Gram negatif bakterilerde GSBL üretiminin üç farklı yöntemle araştırılması ve antibiyotik direnç oranları

Mustafa GÜZEL<sup>1</sup>, Yasemin GENÇ<sup>2</sup>, Altan AKSOY<sup>2</sup>, Penka MONCHEVA<sup>1</sup>, Petya HRISTOVA<sup>1</sup>

### ABSTRACT

**Objective:** In this study, it was aimed to evaluate the efficacy of chromogenic agar for rapid and accurate identification of bacteria producing extended spectrum beta-lactamase (ESBL) and to investigate the antibiotic resistance rates of 105 bacteria that were determined to produce ESBL.

**Methods:** ESBL production was investigated using combined disc method, E-test and chromogenic agar. Additionally, susceptibility patterns of these strains to 21 antibiotics were studied according to the criteria of CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Zone diameters categorized as susceptible were evaluated, and strains showing intermediate susceptibility were considered as resistant. Fisher's chi-square test was used in statistical analysis.

**Results:** A hundred and five strains (81 *Escherichia coli*, 24 *Klebsiella* spp.) were found to produce ESBL by combined disc method, while 96 strains were found to produce ESBL by E-test and 99 strains by chromogenic agar. The sensitivity and positive predictive value of chromogenic agar for ESBL production was 94.8% and 91.9%, respectively. All strains were found to be resistant to cefuroxime, cefazolin and cefotaxime, the antibiotics that ESBL producing strains are considered to be resistant to. Among beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combinations, the highest resistance was

### ÖZET

**Amaç:** Çalışmada genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten bakterilerin doğru ve hızlı tanımlanması için kromojenik agarın etkinliğini test etmek ve GSBL ürettiği tespit edilen 105 bakteride antibiyotik direnç oranlarının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Kombine disk yöntemi, E test yöntemi ve kromojenik agar ile GSBL üretimi tespit edilmiştir. Ayrıca bu suşların 21 antibiyotiğe karşı duyarlılıkları CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) kriterlerine göre çalışılmıştır. Duyarlı kabul edilen zon çapları değerlendirilmiş, orta duyarlı suşlar dirençli kabul edilmiştir. İstatistiksel değerlendirme Fisher's ki-kare testiyle yapılmıştır.

**Bulgular:** Kombine disk yöntemi ile 105 (81 tanesi *Escherichia coli* ve 24 tanesi *Klebsiella* spp.), E test ile 96 ve kromojenik agar ile 99 suşun GSBL ürettiği tespit edilmiştir. Kromojenik agar yöntemi ile GSBL tespitinin duyarlılığı %94,8. GSBL üreten suşların dirençli kabul edildiği sefuroksim, sefazolin ve sefotaksim'e tüm suşların dirençli olduğu görülmüştür. Beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonları içerisinde ampicilin-sulbaktam direncinin (%75,2) yüksek olduğu bu grupta en az dirençli antibiyotiklerin piperasilin-tazobaktam (%31,4) ve sefoperazon -sulbaktam (%32,4) olduğu tespit edilmiştir. Karbapenemlere (imipenem,

<sup>1</sup> University of Sofia "st. Kliment Ohridski" Faculty of Biology, Department of Mikrobiyoloji, SOFIA, BULGARIA

<sup>2</sup> Ankara Numune Research and Education Hospital, Medical Mikrobiyoloji, ANKARA, TURKEY



İletişim/Corresponding Author : Mustafa GÜZEL

University of Sofia "st. Kliment Ohridski" Faculty of Biology, Department of Mikrobiyoloji, SOFIA, BULGARIA

Tel : +90 532 494 32 50

E-posta/E-mail : dr.mustafaguzel@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 20.03.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 05.06.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.33239

Güzel M, Genç Y, Aksoy A, Moncheva P, Hristova P. Comparison of three different methods for detection of ESBL production and antibiotic resistance percentage of ESBL producing Gram negative bacteria. Turk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(2): 131-8.

against ampicillin-sulbactam (75.2%), and the lowest resistance was against piperacillin-tazobactam (31.4%) and cefoperazone-sulbactam (32.4%). A total of 8 strains (7.6%) were found to be resistant to carbapenems (imipenem, meropenem, and ertapenem) and the lowest resistance rate was observed to this group of antibiotics. *Klebsiella* spp. strains were found to be more resistant to beta-lactam-beta-lactamase inhibitors, aminoglycosides, trimethoprim-sulfamethoxazole and chloramphenicol than that of *E. coli*, but *E. coli* strains were found to be more resistant to quinolones ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** It was observed that the use of chromogenic agar has no advantage in detecting ESBL enzymes, the lowest resistance rate in ESBL producing strains was to carbapenems, and the species of ESBL producing bacteria was important in determining the resistance rates and selection of the appropriate antibiotic for treatment.

**Key Words:** Extended spectrum beta- lactamase, chromogenic agar, antimicrobial susceptibility

meropenem ve ertapenem) dirençli toplam 8 (%7,6) suş tespit edilmiş olup en düşük direnç oranı karbapenem grubu antibiyotiklerde saptanmıştır. Beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonları, aminoglikozidler, trimetoprim - sülfametoksazol ve kloramfenikole *Klebsiella* spp. suşlarının *E. coli*'den daha dirençli olduğu fakat kinolonlara *E. coli* suşlarının daha dirençli olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ).

**Sonuç:** GSBL tespitinde kromojenik agar kullanımının bir avantaj sağlamadığı, GSBL üreten suşlarda en düşük direnç oranına sahip antibiyotiklerin karbapenemler olduğu, GSBL üreten bakterilerin türlerinin direnç oranlarını belirlemede ve tedavide kullanılacak antibiyotiğin seçiminde önemli olduğu görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, kromojenik agar, antimikrobiyal duyarlılık

## INTRODUCTION

The frequency of infections caused by bacteria that are resistant to beta-lactam antibiotics is gradually increasing. These bacterial agents causing community-acquired or hospital-acquired infections have been determined to produce large amounts of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) enzymes. *E. coli* belonging to the *Enterobacteriaceae* family and *Klebsiella* spp. are the bacteria causing community and hospital-acquired infections. The most important mechanism of resistance in these bacteria is ESBL production. ESBL is generally transported by plasmids and it hydrolyzes penicillin along with oxyimino cephalosporins and aztreonam. However, these enzymes do not have any effect on cephamycin group cephalosporins (cefoxitin and cefotetan). Additionally, plasmids encoding these enzymes

carry genetic material against many antibiotics other than beta-lactams. Therefore, concurrent aminoglycoside, quinolone, chloramphenicol and trimethoprim-sulfamethoxazole resistance may be present in ESBL-producing bacteria (1,2).

Today, carbapenem derivatives are among the most commonly preferred antibiotics for the treatment of infections with gram-negative bacteria that produce ESBL. Carbapenems have been found effective against plasmid-mediated ESBL enzymes or enzymes other than ESBL as well as chromosome mediated beta-lactamases (1).

Mortality of infections caused by ESBL-positive bacteria has been increased, length of hospital stay has been prolonged, treatment costs have been increased, and clinical and microbiologic response



have been decreased in recent times. Therefore, rapid and accurate identification of ESBL producing bacteria is quite important for the selection of appropriate antibiotic treatment (1).

Hence, in our study, we aimed to compare the efficiency of the tests used in ESBL detection and determine the antibiotic resistance percentage of 105 ESBL-producing isolates.

## MATERIAL and METHODS

The study included 105 isolates (81 *E. coli* and 24 *Klebsiella* spp.) obtained from different patients and clinical specimens (urine and wound) between 2013 and 2014 in Ankara Numune Research and Education Hospital. These isolates were identified using MALDI TOFF mass spectrometry (BD, Sparks, USA) and determined to be ESBL positive by combined disc method.

### Combined disc method

Bacterial suspension adjusted to McFarland 0.5 was cultivated in Mueller Hinton agar (Oxoid) medium, then cefotaxime (30µg) and cefotaxime/clavulanic acid (30µg/10µg) and ceftazidime (30µg) and ceftazidime/clavulanic acid (30µg/10µg) discs (BD BBL) were placed. After 24 hours of incubation, a difference of  $\geq 5$  mm in the zone diameter was interpreted in favor of ESBL production (3). Additionally, antibiotic susceptibility of these isolates against 21 antibiotics were tested according to the CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014) criteria (3). Zone diameters those were defined as susceptible were evaluated, and isolates with intermediate susceptibility were accepted to be resistant.

*E. coli* ATCC 25922 was used as the control strain. One hundred and five strains that were determined to be ESBL positive were stored at -80 C°.

### Phenotypic confirmation using the E-test

Isolates were inoculated to 5% sheep blood agar. A solution consisting of the isolates in 0.5% saline was prepared, the turbidity of the solution was adjusted to 0.5 McFarland, then the isolates were inoculated into Mueller Hinton agar medium. E-test strips containing cefotaxime and cefotaxime/clavulanic acid (0.25-16/0.016-1µg/mL, Biomerieux) were placed in the medium and the plates were evaluated after 24 hours of incubation at 37°C. The isolates having a MIC value for cefotaxime/clavulanic acid of  $\geq 8$  times higher than that for cefotaxime were accepted to be ESBL positive (3).

### Detection of ESBL production using chromogenic agar

The samples were inoculated to chromogenic agar (Biomerieux) medium and were evaluated after incubation for 24 hours at 37°C. According to the manufacturers' recommendations, *E. coli* colonies showing green color and *Klebsiella* spp. colonies with red color were accepted to be ESBL positive.

### Statistical analysis

Statistical analysis was performed by using SPSS 11.0 statistics program, and Fisher's Chi-square test. In statistical evaluation, a p value of  $< 0.05$  was considered to be significant.

The antibiotic resistance percentage of the isolates that were determined to produce ESBL by each of the three methods were compared, and no statistically significant difference was found ( $p>0.05$ ).

It was observed that resistance percentage were high for ampicillin, cephalosporins, aztreonam, trimethoprim - sulfamethoxazole and quinolones.

**Table 1.** The distribution of the resistance percentage of various antimicrobials those were determined by disk diffusion, according to three different methods of ESBL detection (combined disc method, E-test, Chromogenic agar).

Antibiotics	Combined disk synergy test (n=105)	E test (n=96)	Chromogenic agar (n=99)
Ampicillin	105 (100)	96 (100)	99 (100)
Ampicillin-Sulbactam	79 (75.2)	70 (72.9)	75 (75.7)
<b>Amoxicillin-Clavulanic acid</b>	<b>66 (62.8)</b>	<b>57 (59.4)</b>	<b>62 (62.6)</b>
Ticarcillin-Clavulanic acid	58 (55.2)	51 (53.1)	54 (54.5)
Piperacillin-Tazobactam	33 (31.4)	30 (31.2)	31 (31.3)
<b>Cefoperazone- Sulbactam</b>	<b>34 (32.4)</b>	<b>29 (30.2)</b>	<b>32 (32.3)</b>
Cefazolin	105 (100)	96 (100)	99 (100)
Cefuroxime	105 (100)	96 (100)	99 (100)
<b>Cefotaxime</b>	<b>105 (100)</b>	<b>96 (100)</b>	<b>99 (100)</b>
Ceftazidime	73 (69.5)	69 (71.9)	69 (69.7)
Cefepime	62 (59.1)	60 (62.5)	58 (58.9)
Gentamicin	40 (38.1)	37 (38.5)	37 (37.4)
Amikacin	9 (8.6)	9 (9.4)	7 (7.1)
Ciprofloxacin	59 (56.2)	56 (58.3)	54 (54.5)
Levofloxacin	53 (50.5)	50 (52.1)	49 (49.5)
Imipenem	4 (3.8)	2 (2.1)	3 (3.1)
Meropenem	7 (6.7)	4 (4.2)	6 (6.1)
<b>Ertapenem</b>	<b>8 (7.6)</b>	<b>5 (5.2)</b>	<b>7 (7.1)</b>
Trimethoprim-sulfamethoxazole	63 (60)	59 (61.4)	60 (60.6)
Aztreonam	65 (61.9)	63(65.6)	63 (63.6)
<b>Chloramphenicol</b>	<b>11 (10.5)</b>	<b>10 (10.4)</b>	<b>11 (11.1)</b>

Data are presented as number (%).

A total of 8 (7.6%) isolates were found to be resistant to carbapenems (imipenem, meropenem and ertapenem). The lowest resistance percentage was recorded to be against carbapenem antibiotics.

The most susceptible antibiotic in this group was imipenem.

Among beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combinations, antibiotics with the lowest resistance

**Table 2.** Antibiotic resistance percentage of extended spectrum beta-lactamase positive isolates by E-test (n=96)

Antibiotics	Resistance percentage n (%)		P
	<i>E. coli</i> (n=74)	<i>Klebsiella</i> spp. (n=22)	
Ampicillin	74 (100)	22 (100)	-
Ampicillin-Sulbactam	52 (70.3)	18 (81.8)	< 0.05
Amoxicillin-Clavulanic acid	39 (52.7)	18 (81.8)	< 0.05
Ticarcillin-Clavulanic acid	35 (47.3)	16 (72.7)	< 0.05
Piperacillin-Tazobactam	19 (25.7)	11 (50)	< 0.05
Cefoperazone- Sulbactam	19 (25.7)	10 (45.5)	< 0.05
Cefazolin	74 (100)	22 (100)	-
Cefuroxime	74 (100)	22 (100)	-
Cefotaxime	74 (100)	22 (100)	-
Ceftazidime	50 (67.6)	19 (86.4)	< 0.05
Cefepime	43 (58.1)	17 (77.3)	< 0.05
Gentamicin	26 (35.1)	11 (50)	< 0.05
Amikacin	5 (6.7)	4 (18.2)	< 0.05
Ciprofloxacin	45 (60.8)	11 (50)	< 0.05
Levofloxacin	42 (56.7)	8 (36.4)	< 0.05
Imipenem	2 (2.7)	0	-
Meropenem	3 (4.1)	1 (4.5)	-
Ertapenem	3 (4.1)	2 (9.1)	-
Trimetoprim - sulfamethoxazole	43 (58.1)	16 (72.7)	< 0.05
Aztreonam	44 (59.5)	19 (86.4)	< 0.05
Chloramphenicol	5 (6.7)	5 (22.7)	< 0.05

percentage were piperacillin-tazobactam and cefoperazone-sulbactam.

One hundred and five, 96 and 99 isolates were found to produce ESBL by combined disc method,

E-test and chromogenic agar, respectively. Of the 105 strains, which were found ESBL positive with combined disc method, 96 were found positive by E test and 99 were found positive using chromogenic

agar. When the E test method was taken as a reference, of the strains producing ESBL using chromogenic agar, 8 were found to be false positive and 5 were found to be false negative. Accordingly, sensitivity of the chromogenic agar was 94.8%.

As expected, cephalosporin resistance was high in ESBL producing *E. coli* and *Klebsiella* spp. strains. According to the CLSI data, ESBL producing bacteria are considered resistant against cefuroxime, cefazolin and cefotaxime. All of the isolates in this study were found to be resistant against these antibiotics.

When compared to *E. coli* strains, *Klebsiella* spp. were more resistant to beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combinations, aminoglycosides, trimethoprim-sulfamethoxazole and chloramphenicol, however *E. coli* strains were more resistant to quinolones than *Klebsiella* spp. ( $p < 0.05$ ).

## DISCUSSION

In the CLSI 2010 guidelines a change was made in the susceptibility zone diameters of cephalosporins and it was indicated that ESBL producing isolates were already resistant against these antibiotics (3). In the study of Hombach et al. (4) that was performed according to 2013 CLSI data on 150 *Enterobacteriaceae* isolates producing ESBL, cefuroxime and cefotaxime resistance was found to be 91.3%, ceftazidime resistance was found to be 46% and cefepime resistance was found to be 15.3%. Although the resistance percentage against cefuroxime and cefotaxime found in the present study were similar, resistance percentage against ceftazidime (69%) and cefepime (59%) were found to be higher. Cefepime, a fourth generation cephalosporin, is especially effective to SHV ESBLs. However, cefepime shows an inoculum

effect, and is inactivated due to increased beta-lactamase production. In addition, the increase in cefepime use was demonstrated to cause outbreaks of infections due to ESBL-producing organisms. Because of these reasons, it has been emphasized that cefepime should not be primarily used in the treatment of infections caused by ESBL producing microorganisms. If it will be used, it is recommended to be used in high doses, and if possible, along with the other antibiotics that would be effective (quinolones or aminoglycosides) (2).

Among beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combinations, resistance to ampicillin-sulbactam was high, and the most susceptible antibiotics were piperacillin-tazobactam and ceftazidime-sulbactam in our study. Various clinical studies have shown that beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combinations are effective in the treatment of infections caused by ESBL producing bacteria. Seniha et al. in 2011 (5), found that resistance percentage of piperacillin-tazobactam and ceftazidime-sulbactam were 75.8% and 59.1% in *Klebsiella* spp., and 25.8% and 21% in *E. coli* isolates. The corresponding rates in our study were 50% and 45.5% in *Klebsiella* spp., and 25.7% in *E. coli* isolates (for both antibiotics). Likewise, resistance percentage of *Klebsiella* spp. was higher than that of *E. coli* isolates. Certain microorganisms may produce more than one beta-lactamases concomitantly or may express the same beta-lactamase at high amounts, which can lead to the development of resistance also against beta-lactamase inhibitors (2).

Although resistance percentage of *Klebsiella* spp. is generally higher than that of *E. coli* isolates, quinolone resistance was found to be higher in *E. coli* isolates. This may be attributed

to the frequent prescription of quinolones for urinary tract infections mostly caused by *E. coli* isolates.

Currently, carbapenem derivatives are the most commonly preferred antibiotics in the treatment of ESBL producing gram-negative bacterial infections. In the SENTRY study involving 42 centers in the United States of America (USA) (6) carbapenem resistance in *K. pneumoniae* isolates was found to be 6.1%, and in the study of Özgen et al (7) carbapenem resistance was found in 23 (11%) of 210 *Enterobacteriaceae* isolates producing ESBL. The lower resistance percentage found in the present study [8 (7.6%)] may be explained by the fact that Özgen et al. used blood samples of patients who received intense antibiotic treatment in their study.

In the study of Réglie-Poupet et al. (8), combined disc method was compared with chromogenic agar in terms of detection of ESBL. Chromogenic agar was shown to be effective, with

a sensitivity and positive predictive value of 88% and 38.7%, respectively. The higher sensitivity (94.8%) observed in our study may be explained by the fact that those researchers evaluated the combined disc method as the reference method and that chromosomal cephalosporinase produced by *Enterobacter* spp. strains included in the study led to false positivity. It was concluded that the use of chromogenic agar in ESBL detection was not effective due to the facts that chromogenic agar had no advantage of rapid diagnosis and had a low positive predictive value.

In conclusion, it has been demonstrated that the use of chromogenic agar does not have any advantage for detection of ESBL, carbapenems are the antibiotics with the lowest resistance percentage in ESBL producing bacteria, and identification of beta-lactamase producing bacterial species are important in terms of determination of resistance percentage and selection of the antibiotics that will be used in the treatment.

## REFERENCES

1. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev*, 2005; 18(4): 657-86.
2. Sercan U, Hakan L, Dilek A. Önemli ve sorunlu gram negatif bakteri infeksiyonları. *Bilimsel Tıp Yayınevi*, 2004; 85-94.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 24<sup>th</sup> Informational Supplement. Document M100-S24, 2014. CLSI, Wayne, Pa.
4. Michael H, Brice Mouttet and Guido VB. Consequences of revised CLSI and EUCAST guidelines for antibiotic susceptibility patterns of ESBL- and AmpC b-lactamase-producing clinical *Enterobacteriaceae* isolates. *J Antimicrob Chemother*, 2013; 68: 2092-2098.
5. Seniha SA, Asuman I, Simin C, Ayse NO, Naz C, Seyfi CO, Sebahat A. Gram-negative bacilli causing infections in an intensive care unit of a tertiary care hospital in Istanbul, Turkey *J Infect Dev Ctries*, 2014; 8(5): 597-604.

6. Kaiser DM, Castanheira M, Jones RN, Tenover F, Lynfi R. Trends in *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-positive *K. pneumoniae* in US hospitals: report from the 2007-2009 SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2013; 76(3): 356-60.
7. Özgen KE, Hatice AU, Alper E, Barış B, Burçin Ş, Gülşen H. İnvazif enfeksiyonlara neden olan GSBL pozitif *Enterobacteriaceae* İzolatlarında Karbapenem Direnci. *Mikrobiyol Bul*, 2014; 48(1): 59-69.
8. Réglie-Poupet H, Naas T, Carrer A, Cady A, Adam JM, Fortineau N, Poyart C, Nordmann P. Performance of chromID ESBL, a chromogenic medium for detection of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases. *J Med Microbiol*, 2008; 57(3): 310-5.

## Endoscopic extraction of *Fasciola hepatica*: a case report

### *Fasciola hepatica*'nın endoskopik olarak çıkarılması: bir vaka

Nevzat ÜNAL<sup>1</sup>, Yeliz TANRIVERDİ-ÇAYCI<sup>2</sup>, Özgür ECEMİŞ<sup>3</sup>, Ahmet BEKTAŞ<sup>4</sup>, Murat HÖKELEK<sup>5</sup>

#### ABSTRACT

*Fasciola hepatica* infection is a zoonosis mostly encountered in the sheep-raising countries. The early phase *F. hepatica* infection is characterised by fever, abdominal pain and eosinophilia. The biliary obstruction and icterus are rarely caused by *F. hepatica*. Our case was a 22-years old female, from Giresun, a north coast city of Turkey, who applied because of icterus and abdominal pain. To analyse the problem abdominal US and laboratory tests was performed which showed dilatation in the proximal of choledochal and tubuler echogenites and elevated hepatic enzymes. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography showed minimal dilatation of intrahepatic bile ducts and heterogenous filling defect in the hilus. Biliary sphincterotomy had been applied and *F. hepatica* had been removed by balloon catheter. This case report showed that endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) has an important role in the diagnosis and the treatment of biliary fascioliasis.

**Key Words:** *Fasciola hepatica*, biliary obstruction, ERCP

#### ÖZET

*Fasciola hepatica* koyun yetiştiriciliği yapılan ülkelerde sıklıkla görülen bir zoonozdur. *F. hepatica* enfeksiyonu erken dönemde ateş, karın ağrısı ve eozinofili ile karakterizedir. *F. hepatica* nadiren bilier tıkanıklık ve iktere neden olur. Vakamız, Türkiye'nin kuzey kıyı şeridinde bir şehir olan Giresun'dan karın ağrısı ve ikter nedeniyle gelen 22 yaşında bayan hastadır. Nedeni araştırmak için yapılan batın ultrasonu ve laboratuvar testlerinde; proksimal koledokta genişleme ve tubuler ekojenite ile karaciğer enzimlerinde yükselme görülmüştür. Endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi'de intrahepatik safra kanallarında minimal genişleme ve hilusta heterojenöz dolma defekti görülmüştür. Biliar sfinkterotomi uygulanmış ve *F. hepatica* balon kateter ile çıkarılmıştır. Bu vakada endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi (ERCP)'nin fasiyoliaz tanı ve tedavisinde önemli bir role sahip olduğu görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** *Fasciola hepatica*, safra tıkanıklığı, ERCP

<sup>1</sup> Adana Numune Education and Research Hospital, Laboratory of Microbiology, ADANA

<sup>2</sup> Ondokuz Mayıs University, Medical Faculty, Department of Medical Microbiology, SAMSUN

<sup>3</sup> Medical Park Hospital, Gastroenterology, SAMSUN

<sup>4</sup> Ondokuz Mayıs University, Medical Faculty, Department of Gastroenterology, SAMSUN

<sup>5</sup> Istanbul University, Cerrahpasa Medical Faculty, Department of Medical Microbiology, ISTANBUL



İletişim / Corresponding Author : Nevzat ÜNAL

Adana Numune Education and Research Hospital, Laboratory of Microbiology, ADANA

Tel : +90 532 442 61 42

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

Geliş Tarihi / Received : 20.01.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 11.03.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.38259

Ünal N, Tanrıverdi-Çaycı Y, Ecemiş Ö, Bektaş A, Hökelek M. Endoscopic extraction of *Fasciola hepatica*: a case report. Türk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(2): 139-42.

## INTRODUCTION

Fascioliasis is caused by flukes of the genus *Fasciola* (1). *Fasciola hepatica* infection is a zoonosis mostly encountered in the sheep-raising countries (2). Adult *Fasciola hepatica* lives in small passages of the liver of many kinds of mammals, particularly ruminants. Humans are occasionally infected. But it has been estimated that it has affected 2.4 million person across the world (1).

The adult fluke is large, flat, brownish and leaf shaped. The ovum of *F. hepatica* passes to the faeces through the intestine and so contaminates water and completes its development in water. In the water, miracidia hatch and reach to the snail which is the intermediate host of the worm. In the intermediate host, cercariae develop and encyst into metacercariae on aquatic grasses and plants. When eating infected material, infective metacercariae excyst in the duodenum and larvae emerge. The larvae penetrate the wall of the small intestine into the peritoneal cavity and then penetrate the liver capsule and pass through the liver tissue into the biliary tract (2).

The clinical presentation of *F. hepatica* infection has two different phases. The early phase is characterized by fever, abdominal pain and eosinophilia (2). *F. hepatica* infection may be asymptomatic. Heavy infections can lead to cholestasis and result in hepatic atrophy and periportal cirrhosis (1). There are some cases in which hemobilia and pancreatitis were reported (3).

Adult parasites can survive up to 10 years. In humans, approximately 12 to 16 weeks are needed from infection to oviposition. In this period, it is possible to diagnose the fascioliasis serologically. Finding of the characteristic ova in the stool is used in the diagnosis of fascioliasis. Also radiological imaging methods like ultrasound (US), endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) and magnetic resonance imaging (MRI) can also be used

in the diagnosis (1, 2).

The biliary obstruction and icterus are rarely caused by *F. hepatica*. We present a patient with biliary obstruction who was diagnosed and treated by ERCP.

## CASE

Our case was a 22-years old female, from Giresun; a north coast city of Turkey, who came because of icterus and abdominal pain. She had no symptoms until one week admission to the state hospital in Giresun. She had episodic right upper quadrant pain especially after meal but unrelated to the position or respiration. Her pain was accompanied by nausea. She had no fever. In order to analysis the problem abdominal US and laboratory tests were performed. US showed dilatation of the external bile ducts proximal to choledoc and tubuler echogenites in the common bile duct. Hepatic enzymes were elevated. Based on the US and laboratory tests, ERCP was suggested to the patient and she was referred to our hospital which is a tertiary care medical center.

In our hospital, her physical examination was normal but she had right upper quadrant tenderness. Laboratory test results were as follows; white blood cell 6200 / $\mu$ L (34.7% lymphocytes, 41% neutrophils, 10.4% monocytes and 12.7% eosinophils), alanine aminotransferase 354.23 U/L; aspartate aminotransferase 264.2 U/L; gama glutamyl transferase 100.5 U/L; amylase 1677.19 U/L; lipase 3000 U/L; pancreatic amylase 1567.62 U/L; total bilirubin 1.9 mg/dl; direct bilirubin 0.68 mg/dl. The urine color was orange and positive for urobilinogen. ERCP showed dilatation of common bile duct and heterogenous filling defect in it. Biliary sphincterotomy has been performed and *F. hepatica* was removed by balloon catheter (Figures 1, 2).





**Figure 1.** Filling defect within the common bile duct during endoscopic retrograde cholangiography (ERC)

## DISCUSSION

Human fascioliasis is a worldwide illness (4). Acute illness occurs due to the tissue damage (1). Infection in human usually causes by eating watercress grown in sheep-raising areas. The symptoms of the disease change by the phase of infection. The acute or hepatic stage symptoms are pain, pruritis, weight loss and eosinophilia. Generally, blood transaminase levels are normal or minimally elevated. The biliary phase is asymptomatic and extrahepatic obstruction and cholestasis are rarely reported (5). There were less than 50 cases reported across the world which have cholestasis and biliary obstruction. Interesting points of our case are, she is young, healthy and living in a coast city.

Tuna reported a case diagnosed as fascioliasis by ERC. The patient was 44 years old and had abdominal pain, nausea and vomiting (6). Another case, reported by Devci et al. was a nine-years old boy who had nausea, epigastric pain, decreased appetite and eating complaints. They were diagnosed the fascioliasis by serological tests and radiological examinations (7). Clinical spectrum of fascioliasis is wide and has similar symptoms and signs as other helminthic



**Figure 2.** A macroscopic image of extracted adult *Fasciola hepatica* parasites

infections. Sera samples of 226 cases, suspected of cystic echinococcosis had been evaluated for cystic echinococcosis and fascioliasis. Among them five (2%) were found seropositive for fascioliasis (8).

Identifying *F. hepatica* eggs in stool samples was the most commonly used main diagnostic method (2). Stool can be examined for eggs during the biliary stage of the infection. Eggs are nonembryonated and ovoid with a small operculum. However, this method has some disadvantages because eggs do not appear during the migration stage. The immunologic tests and radiological techniques are other methods used in the diagnosis of fascioliasis. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) has a sensitivity of 100% and specificity of 97,8%. US and especially ERC have important role in the diagnosis and treatment of *F. hepatica* infection as in our case (5). There were some previous reports in three patients that ERC and sphincterotomy were successful for extracting the parasites (9). In the diagnosis of *F. hepatica* MRI shows characteristic parenchymal lesions and it is better than computer tomography (CT) in the early stage of fascioliasis (4).

Treatment of *F. hepatica* infections have some difficulties. Unlike other flukes, praziquantel has no effect on *F. hepatica*. Antiparasitic agents used in the past like parenteral dehydroemetine and oral bithional are not effective, either. In our case, triclabendazole was suggested for treatment. It is highly effective against the mature and immature forms of worms (10).

In conclusion, biliary obstruction is a rare complication of fascioliasis. Physicians should be aware of this disease when a patient has abdominal pain, elevated or normal hepatic enzymes, icterus and eosinophilia. ERCP has an important role in the diagnosis and the treatment of the disease and can be used safely.

## REFERENCES

1. Jones MK, Mcmanus DP. Trematodes. In: Murray P, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed, Washington, DC. ASM Press, 2007: 2175-87.
2. Adel AFM. Trematodes and Other Flukes. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious D*, 7th ed, Philadelphia, 2009: 2954-6.
3. Bahcecioglu IH, Ataseven H, Aygen E, Coskun S, Kuzu N, Ilhan F. *Fasciola hepatica* case with hemobilia. *Acta Medica*, 2007; 50: 155-156.
4. Taheri MS, Aminzade Z, Shokohi SH, Birong SH, Aghazade K. Hepatobiliary Fascioliasis: Clinical and Radiological Features. *Iran J Parasitol*, 2007; 2: 48-55.
5. Moghadami M, Moradni M. *Fasciola hepatica*: A cause of obstructive jaundice in an elderly man from Iran. *Saudi J Gastroenterol*, 2008; 14: 208-210. doi: 10.4103/1319-3767.43279
6. Tuna Y. Endoscopic management of biliary fasciolosis. *Cumhuriyet Med J*, 2011; 33: 469- 72. DOI: <http://dx.doi.org/10.7197/cmj.v33i4>
7. Deveci U, Öztürk T, Üstün C. Radyolojik Olarak Tanı konulan Pediatrik *Fasciola hepatica* Olgusu. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 2011; 35: 117-9. DOI: 10.5152/tpd.2011.29
8. Şakru N, Korkmaz M, Demirci, Kuman A, Ok ÜZ. *Fasciola hepatica* infection in Echinococcosis suspected cases. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 2011; 35: 77-80. doi:10.5152/tpd.2011.20
9. Ozer B, Serin E, Gümürdülü Y, Gür G, Yılmaz U, Boyacıoğlu S. Endoscopic extraction of living *Fasciola hepatica*: Case report and literature review. *Turkish J Gastroenterol*, 2003; 14: 74-7.
10. Echenique-elizonde M, Amandarain J, Lironde de Robles C. Fascioliasis: An exceptional cause of acute pancreatitis. *J Pancreas*, 2005; 6: 36-39.

## D vitamini metabolik sendrom bileşenlerini etkiler mi?

### Does vitamin D affects components of the metabolic syndrome?

Sevil KARAHAN-YILMAZ<sup>1</sup>,Aylin AYAZ<sup>2</sup>

#### ÖZET

Metabolik sendrom tüm dünyada giderek yaygınlaşan kardiyometabolik komplikasyonları ile yüksek morbidite ve mortaliteye sahip önemli bir halk sağlığı sorunudur. Kalıtımla gelen bazı özellikler dışında hareketsiz yaşam tarzı, yanlış beslenme alışkanlıkları gibi çevresel etmenler metabolik sendrom için risk faktörü oluşturmaktadır. Metabolik sendromun önemli komponentleri; dislipidemi (HDL düzeyi düşüklüğü, artmış trigiserid düzeyi), hiperglisemi, yüksek kan basıncı ve abdominal obezitedir. Metabolik sendromu oluşturan beş ana komponent dışında temelinde insülin direncinin rol oynadığı düşünülen birçok klinik tabloda bu sendromun klinik yansımaları olarak kabul edilmektedir. Metabolik sendromun klinik yansımaları; diyabet, esansiyel hipertansiyon, visseral obezite, kardiyovasküler rahatsızlıklar, insülin direnci, osteoporoz, polikistik over sendromu, dislipidemi, hiperkoagulabilite, hiperürisemi, kemik mineral yoğunluğu, yağlı karaciğer ve uyku apnesidir. Son yıllarda D vitamini, şişmanlık ve insülin direncinin neden olduğu hastalıkların oluşumunu önlediği, eksikliğinin ise bu hastalıkların ortaya çıkmasını kolaylaştırdığı ileri sürülmektedir. D vitamini yetersizliği gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde prevalansı giderek artan bir halk sağlığı sorunudur. D vitamini yağda eriyebilen bir vitamin olmasına karşın, vücutta sentez edilen ve sentezlendiği yerin dışında farklı bölgelerde etki göstermesi nedeniyle günümüzde bir hormon olarak tanımlanmaktadır. Kalsiyum dengesi üzerine bilinen olumlu etkilerinin yanı sıra, endokrin sistemle ilgili fizyolojik işlevlere de sahiptir. Vitamin D düzeyini

#### ABSTRACT

Metabolic syndrome is a major public health problem which has become increasingly common worldwide with cardiometabolic complications and have high morbidity and mortality. In addition to some genetical features, environmental factors such sedentary lifestyle, improper eating habits constitutes a risk factor for metabolic syndrome. Important components of the metabolic syndrome are dyslipidemia (low HDL levels, high triglycerides level), hyperglycemia, elevated blood pressure and abdominal obesity. Forming metabolic syndrome of other than the five main components, insulin resistance on the basis thought to play a role in several clinical implications of this syndrome is considered. Clinical implications of the metabolic syndrome are; diabetes, essential hypertension, visceral obesity, cardiovascular disorders, insulin resistance, osteoporosis, polycystic ovary syndrome, dyslipidemia, hypercoagulability, hyperuricemia, bone mineral density, fatty liver disease and sleep apnea. In recent years, it is suggested that vitamin D prevents the occurrence of diseases caused by obesity and insulin resistance and the lack of it facilitates occurrence of these diseases. Vitamin D deficiency is a public health problem with a growing prevalence in developed and developing countries. Vitamin D is a fat-soluble vitamin, but it is synthesized in the body and affect also other regions it is expressed in the body. Because of this it is described as a hormone in the present day. As well as its known positive effects on calcium balance, it has also physiological functions related the endocrine system. The best indicator showing

<sup>1</sup> Erzincan Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, ERZİNCAN

<sup>2</sup> Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Sevil KARAHAN-YILMAZ

Erzincan Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, ERZİNCAN

Tel : +90 446 224 58 61

E-posta / E-mail : sevil\_karahan@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 19.06.2014

Kabul Tarihi / Accepted : 14.09.2014

DOI ID : 10.5505/TurkJHijyen.2015.46693

Karahan-Yılmaz S, Ayaz A. D vitamini metabolik sendrom bileşenlerini etkiler mi?. Turk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(2): 143-54.

gösteren en iyi gösterge serum 25(OH)D düzeyidir. D vitamini alımı ve 25(OH)D düzeyinin obezite, metabolik sendrom ve diyabetle ilişkili olduğu bildirilmektedir. Vitamin D ile ilişkisi en çok araştırılan hastalıklar; kardiyovasküler hastalıklar, böbrek hastalıkları, diyabet, obezite, metabolik sendromdur. Bu derlemede D vitamini metabolik sendrom bileşenlerinden insülin direnci, diyabet, obezite, hipertansiyon, dislipidemi, kardiyovasküler hastalıklar, yağlı karaciğer hastalığı, polikistik over sendromu ve kemik mineral yoğunluğu üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Metabolik sendrom, D vitamini, diyabet, obezite, dislipidemi

the level of vitamin D is serum 25 (OH) D level. Vitamin D intake and 25 (OH) D levels are reported to be associated with obesity, metabolic syndrome and diabetes. Diseases which are mostly researched about relation between Vitamin D are cardiovascular disease, kidney disease, diabetes, obesity, metabolic syndrome. In this review, evaluation of the effects of Vitamin D on the metabolic syndrome components of insulin resistance, diabetes, obesity, hypertension, dyslipidemia, cardiovascular disease, fatty liver disease, polycystic ovary syndrome and bone mineral density, was aimed.

**Key Words:** Metabolic syndrome, vitamin D, diabetes, obesity, dyslipidemia

## GİRİŞ

Metabolik sendrom ilk kez 1988 yılında Reaven tarafından çeşitli risk faktörlerinin bir arada bulunduğu sendrom X olarak tanımlanmıştır. Metabolik sendrom için ayrıca insülin direnci sendromu, polimetabolik sendrom, ölümcül dördü ve uygarlık sendromu gibi terimlerde kullanılmaktadır (1). Metabolik sendromun her bir bileşenin patogenezi karmaşık ve tam olarak anlaşılammış olsa da metabolik sendromun sebebi olabilecek faktörlerin en önemlileri santral obezite ve insülin direnci olarak görülmektedir. Santral obezite diğer metabolik sendrom bileşenlerinin her biri ile özellikle de insülin direnci ile bağımsız olarak ilişkilidir. Aterojenik dislipidemi tanımı ile trigliserid düzeylerinin artışı, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) düzeyinin düşüklüğü ve bunlarla birlikte Apo-B ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)'in artışı olarak ifade edilir. Bu durum hem Tip 2 Diyabetes Mellitus (DM) hem de metabolik sendrom olgularında sıklıkla gözlenmektedir. HDL düşüklüğü ve trigliserid yüksekliği diyabetik ve diyabetik olmayan olgularda sıklıkla insülin direnci ile ilişkili bulunmuştur. Her iki bulgu da koroner kalp hastalığı için risk faktörleridir (2). Bireysel faktörlerin dışında yaş, fiziksel inaktivite, yüksek enerji, yağ, karbonhidrat ve fazla tuz alımı metabolik sendroma neden olan diğer risk faktörleridir.

D vitamini esas olarak deride 7-dehidrokolesterolden ultraviyole ışığın etkisiyle üretilen steroid yapılı bir prohormondur. D vitamini ihtiyacının yaklaşık % 95'i güneş ışınlarının etkisiyle deride sentezlenmektedir. D vitamini deride sentezlenen formu kolekalsiferol (vitamin D3), besinlerle alınan formu ergokalsiferol (vitamin D2)'dür (3). Vitamin D'nin klasik olmayan etkileri 3 ana başlık altında toplanmaktadır: Hormon sekresyonunun regülasyonu, immün fonksiyonların regülasyonu, hücre proliferasyonu ve farklılaşmasının düzenlenmesidir. Aktif D vitamini normal kemik mineral dengesinin sürdürülmesinde ve insülin sekresyonunda önemli rol oynar (4).

D vitamini yetersizliği önemli bir halk sağlığı problemi olup, metabolik sendrom riskini artırmasıyla ilişkili bulunmuştur (5). D vitamini alımı ve serum 25(OH)D düzeyleri obezite, metabolik sendrom, insülin direnci ve diyabetle ilişkilendirilmiştir (6). Bu derlemede D vitamini metabolik sendrom bileşenleri üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

### Metabolik Sendrom ve D Vitamini

Metabolik sendrom kriterleri farklı otoriteler tarafından değerlendirilmiştir. Bu kriterler Tablo1'de verilmiştir (7).

Günümüzde sıklıkla Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Adult Treatment Panel (ATP III) kriterleri, metabolik sendromun tanı ve teşhisinde kullanılmaktadır. Ülkemizde ise Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği (TEMED) 2009 yılında, insülin direncini de içeren 1998 Dünya Sağlık Örgütü metabolik sendrom tanı kriterleriyle, Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF)'nin 2005 yılında yayınladığı metabolik sendrom kılavuzlarından esinlenerek bir tanı kılavuzu oluşturmuştur (8).

Metabolik sendromu oluşturan beş ana komponent dışında temelinde insülin direncinin rol oynadığı düşünülen birçok klinik tabloda bu sendromun klinik yansımaları olarak kabul edilmektedir. Metabolik sendromun klinik yansımaları; diyabet, esansiyel hipertansiyon, visseral obezite, kardiyovasküler rahatsızlıklar, insülin direnci, osteoporoz, polikistik over sendromu, dislipidemi, hiperkoagulabilite, hiperürisemi, kemik mineral yoğunluğu, yağlı karaciğer ve uyku apnesidir. Metabolik sendrom gelişiminde dört temel unsur ön plana çıkar. Bunlar; serbest yağ asitleri artışı, insülin duyarlılığını

sağlayan adiponektinde azalma, periferel dokularda insülin duyarlılığını sağlayan leptin etkisine direnç, proinflamatuvar sitokinlerin salınımı ile yağ dokusunda makrofaj ve infiltrasyonun artmasıdır (9).

Metabolik sendrom prevalansı erişkinlerde ortalama %22 olarak bildirilmektedir (8). Ülkemizde 2010 yılında yapılan Metabolik Sendrom Derneği Türkiye Sağlık Çalışmasında (PURE TÜRKİYE; Prospective Urban Epidemiological Study) 4057 birey çalışmaya dahil edilmiş, bel çevresi erkeklerde >94 cm, kadınlarda ise >80 cm kriter olarak alınmıştır. Kadınlarda metabolik sendrom sıklığı %43,5, erkeklerde ise %41,4 olarak saptanmıştır. Aynı çalışmada, yaş arttıkça özellikle 60-64 yaşlarındaki bireylerde metabolik sendrom sıklığı %57,7 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada kadınların %63,6'sının, erkeklerin %34,5'inin obez olduğu saptanmıştır (10).

D vitamini yetersizliği giderek artan bir halk sağlığı sorunu olup, prevalansı gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler arasında %29-100 arasında değişmektedir. Gazi Üniversitesinde 6-11 aylık çocuklar ve anneleriyle yapılan çalışmada annelerin %81,7'sinin D vitamini

**Tablo 1.** Metabolik Sendrom Tanı Kriterleri

IDF	NCEP	DSÖ	AACE
Glisemi bozukluğu ve 2 kriterin olması	5 kriterden 3'ünün olması	Glisemi bozukluğu ve 2 kriterin olması	Risk faktörleri
Açlık kan şekeri 110-125 mg/dl veya Tip 2 DM	Açlık kan şekeri 110-125mg/dl	Glukoz intoleransı, Tip 2 DM, insülin direnci	Açlık kan şekeri 110-125mg/dl veya OGTT 2.saat >140 mg/dl
Bel çevresi ≥ 94 cm E Bel çevresi ≥80 cm K	Bel çevresi ≥ 102 cm E Bel çevresi.≥88 cm K	BKİ>30 ve Bel/kalça çevresi >0,9 E Bel/kalça çevresi > 0,85 K	BKİ>30 ve Bel çevresi ≥ 102 cm E Bel çevresi ≥88 cm K
TG≥150 mg/dl veya	TG ≥150 mg/dl veya	TG ≥150 mg/dl veya	TG≥150 mg/dl veya
HDL < 40 E, <50 K	HDL < 40 E, <50 K	HDL <35 E, <39 K	HDL < 40 E, <50 K
Kan basıncı ≥130x85 mmHg	Kan basıncı ≥130x85 mmHg	Kan basıncı ≥160x90 mmHg	Kan basıncı ≥130x85 mmHg
-	-	Microalbuminüri ≥20 mcg/min	-

AACE=Amerikan Klinik Endokrinologlar Birliği, BKİ=Beden Kütle İndeksi,DSÖ=Dünya Sağlık Örgütü, Tip 2 DM=Tip2 diyabet, E=Erkek, IDF=Uluslararası Diyabet Federasyonu, HDL=Yüksek dansiteli lipoprotein, K=Kadın, NCEP=Ulusal Kolesterol Eğitim Programı, TG=Trigliserit

düzeği 20 ng/mL'nin altında, çocukların %26,8'inde ise D vitamini seviyesi 15 ng/mL'nin altında saptanmıştır (11).

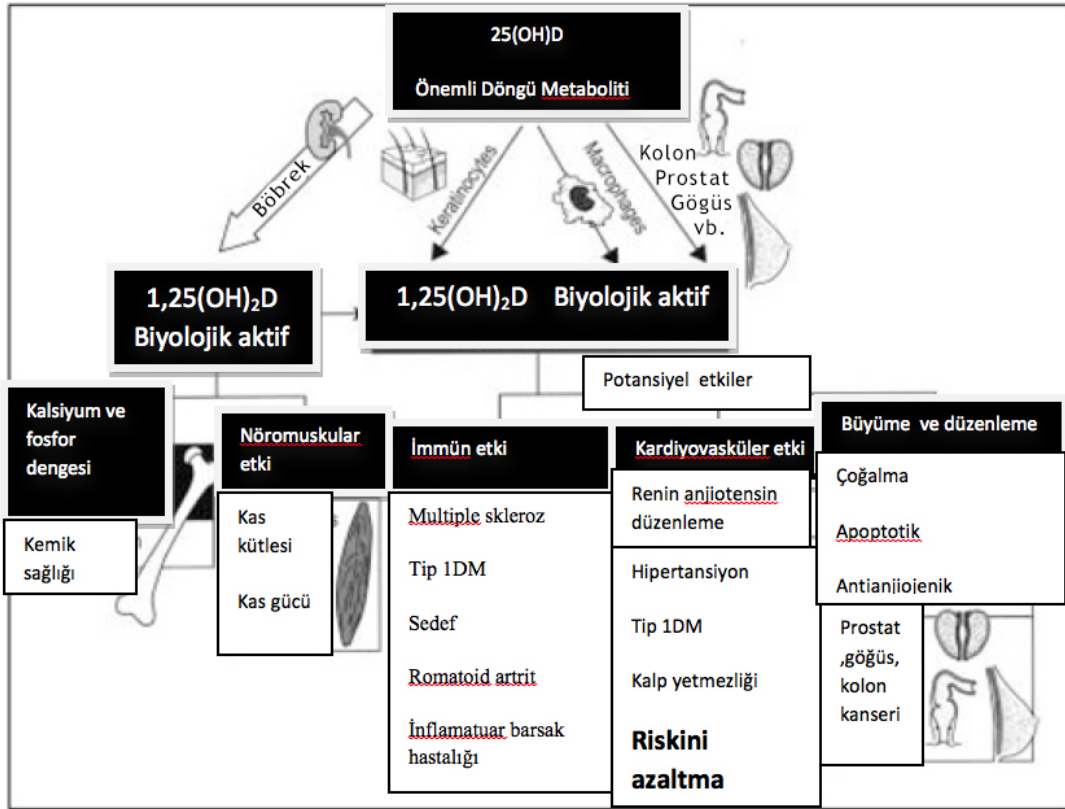
Kandaki 25(OH)D, vitamin D düzeyinin yeterli veya yetersizliğini saptamada iyi bir indikatördür. Serum 25(OH)D düzeylerine göre vitamin D durumu Tablo 2'de verilmiştir (12). Serum 25(OH)D düzeyi >150 ng/mL olduğu durumda ise vitamin D intoksikasyonu söz konusudur. Amerika Tıp Enstitüsü (Institute of Medicine-IOM); 19-70 yaş yetişkin bireyler için günlük D vitamini gereksinimini 600 IU/gün olarak önermektedir (13).

Erken dönemde çocukluk çağı hastalıkları ve riskleri, D vitamini yetersizliği, çocukluk çağında metabolik sendrom probleminin gelişimine neden olmaktadır (14). Adinopektin, leptin ve 1,25(OH)2D3 düzeyleri metabolik sendrom riskiyle

ilişkili bulunmuştur (15). Glikoz hemostazına bağlı metabolik sendrom oluşumu 25(OH)D ile ilişkilidir (16). Artan diyabet hastalığı riskine karşı yüksek 25(OH)D konsantrasyonları, daha az metabolik sendromla ilişkili bulunmuştur (17). Metabolik sendromda D vitamini yetersizliği gözlenirken, D vitamini reseptör gen polimorfizminin metabolik sendrom bileşenleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Tablo 2. Serum 25(OH)D düzeylerine göre vitamin D durumu

Serum 25(OH)D düzeyi (ng/mL)	Vitamin D durumu
>30 ng/mL	Yeterli
20-30 ng/mL	Vitamin D yetmezliği
<20 ng/mL	Vitamin D eksikliği
<10 ng/mL	Ciddi D vitamini eksikliği



Şekil 1. D vitamininin potansiyel etkileri (20)

D vitamini reseptörlerinden vitamin D reseptörü (VDR) polimorfizmleri insülin sekresyonu, insülin direnci ve HDL düzeylerini etkilemektedir (18).

Sağlıklı bireylerde serum D vitamini düzeyi Tip 2 DM ve metabolik sendrom gelişme riskiyle ilişkili bulunmuştur. Yeterli D vitamini düzeyi metabolik hastalıklardan korunmaya yardımcıdır (19).

D vitamininin metabolik sendrom bileşenleri üzerine etkisi Şekil 1’de verilmiştir.

### İnsülin Direnci

İnsülin; iskelet kası, karaciğer, yağ dokusu, böbrek, beyin, inflamatuvar hücreler gibi birçok organ ve doku üzerinde etkilidir. İskelet kasına glukoz ve aminoasit alımını, karaciğerden glukoz çıkışını ve yağ dokusunda lipolizi düzenler. İnsülin direncinde yağ dokusunun etkileri önemlidir. Metabolik sendromun anahtar özelliği, yağ hücrelerinden serbest yağ asitlerinin üretimi ve salınımının normal insülin düzeyleri ile baskılanamamasıdır. İnsülinin antilipolitik etkilerine karşı yağ dokusunun direnci ve yükselmiş plazma serbest yağ asitleri, kas ve diğer hedef dokularda insülin direncinin gelişmesine yol açar. Klinikte insülin direncini belirlemede en sık kullanılan pratik yöntem

“homeostasis model assesment” (HOMA) indeksidir (HOMA = açlık insülini ( $\mu\text{u}/\text{mL}$ ) x açlık plazma glukozu ( $\text{mg}/\text{dL}$ ) / 405). Normal bireylerde HOMA değeri 2,5’den düşük olarak bildirilmektedir, 2,5’in üzeri ise değişik derecelerde insülin direncini yansıtmaktadır (21).

D vitamini çevre dokularda insülin direncini azaltmakta, böylece insülin direnci nedeniyle kan şekerindeki artışa yanıt olarak oluşan aşırı insülin salınımını azaltmakta ve insülin duyarlılığını artırmaktadır. Bu nedenle D vitamini yetersizliği metabolik sendrom ve Tip 2 DM için bir risk faktörüdür. D vitamini yetersizliğinin insülin direnci ve B hücre işlev bozukluğu ile ilişkisi de gösterilmiştir. D vitamini yalnızca B hücrelerinin yapım kapasitesini artırmamakta, proinsulin-insülin dönüşümünü de hızlandırmaktadır (22).

Serum 25(OH) vitamin D ile insülin direnci arasında ilişki olduğu, düşük serum D vitamini düzeylerinin yüksek glikoz konsantrasyonlarıyla eşlik ettiği bildirilmiştir (23). D vitamininin aktive edilmiş formu olan 1,25(OH)2D3 insülin direnci geliştirebilmektedir (24). D vitamininin insülin direnci ve diyabetle ilişkisini gösteren çalışmalar Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3. D vitamininin insülin direnci ve diyabetle ilişkisi

Referans	Çalışma detayları	Sonuçlar
Roya ve arkadaşları (25) (2014)	Metabolik sendromu olan, BKİ’i 3. derece Z skoruna eşit ve büyük olan Plasebo alan 22 çocuk 300,000 IU D vitamini alan 21 çocuk	Suplementasyon alan grupta insülin ve TG düzeylerinde azalma
Faranak ve arkadaşları (26) (2013)	297 sağlıklı çocuk	25(OH)D 1116ng/mL iken HOMA-IR >2,1 25(OH)D düzeyi ile insülin direnci ilişkili
Niti ve arkadaşları (27) (2014)	Menopoz sonrası kadınlar	25(OH)D 12.73ng/mL, BKİ 27.78 kg/m <sup>2</sup> , HOMA-IR 2,31 25(OH)D düzeyi ile BKİ ve insülin direnci arasında negatif ilişki
Afsaneh ve arkadaşları (28) (2014)	100 Tip 2 DM’li hastaya 8 hafta boyunca 50,000 IU D3 vitamini verilmiş	HOMA-IR düzeyi başlangıç; 3,57, son; 2,89 İnsülin düzeyi başlangıç; 10,76, son; 8,6 D vitamini suplementasyonu Tip 2 DM’li hastalarda insülin direncini azaltmakta

### Diyabet

Tip 2 diyabet erişkin toplumda en yaygın görülen metabolizma hastalığıdır. Genellikle orta ve ileri yaşlarda görülen hastalık olarak bilinse de son yıllarda daha genç yaşlarda görülmeye başlamıştır. D vitamininin Tip 2 DM ilişkili ve glisemik kontrolde rolü olduğu bilinmektedir. Pankreatik beta hücrelerinde insülin sekresyonunun düzenlenmesinde rolü olan kalsiyumun emiliminde D vitaminine gereksinme vardır. D vitamini pankreatik beta hücrelerinden insülin sekresyonunu düzenlemektedir. D vitamini yetersizliği, insülin direnciyle ilişkili bulunmuştur (28, 23).

D vitamini reseptörü olan VDR polimorfizmleri (TaqI, BsmI, Apal ve FokI genotipleri) ve genetik yatkınlığın metabolik sendrom bileşenleri ile Tip 2 DM ve D vitamini yetersizliğiyle ilişkisine bakıldığında; obezite, düşük HDL düzeyi ve Tip 2 DM VDR geniyle ilişkili bulunmuştur. FokI ve BsmI genotiplerinin Tip 2 DM'e karşı koruyucu etkisi saptanırken, Apal genotipi D vitamini yetersizliğini azaltmakla ilişkilendirilmiştir (29).

Yapılan çalışmalarda vitamin D suplementasyonunun glisemik durumu etkilemediği bildirilmiştir (30, 31). Buna karşın; yapılan çalışmalarda D vitamini suplementasyonunun insülin sekresyonu ve glikoz toleransını düzenlediği belirlenmiştir (28, 32).

Tip 2 DM varlığında 25(OH)D seviyelerinin azaldığı saptanmıştır (33). Ayrıca yüksek serum 25(OH)D düzeyinin diyabet gelişim riskinde koruyucu etkisinin olduğu saptanmıştır (6). Tip2 DM hastalarında insülin direnci, açlık kan şekeri ve HbA1c'nin D vitamini seviyesini etkilemediği bildirilmiştir (34).

D vitamininin açlık kan glikozu, HbA1c ve lipid profili ile arasındaki ilişki incelendiğinde D vitamini yetersizliğinin glikoz ve lipid metabolizmasının düzenini bozduğu belirlenmiştir (35).

### Obezite

Metabolik sendromu olan kişilerin çoğu kilolu ya da obezdir. Özellikle yağlanmanın artması metabolik

sendromun temelini oluşturan biyokimyasal değişikliklere neden olur. D vitamini yetersizliği olan kişilerde fazla yağlanma yağ dokularında yağda eriyen vitaminlerin depolanmasını sağlayarak; vitaminlerin biyoyararlılığını azaltmaktadır.

Obez ve D vitamini yetersizliği olan 21 kontrol ve 23 plasebo adölesanla yapılan bir çalışmada; 6 ay boyunca çocuklara 4000 IU/gün D3 vitamini suplementasyonu ve plasebo verilmiştir. D3 vitamini seviyelerinde ortalama 2,8 ng/mL artış olurken, açlık insülin, HOMA-IR ve leptin/adinopektin oranları değerlerinde azalma saptanmıştır. D vitamini yetersizliği olan obezite ve onunla ilişkili insülin direnci tedavilerinde D vitamini suplementasyonu olumlu etki göstermiştir. (36).

Serum 25(OH) vitamin D ile obezite arasında ilişki olduğu bilinmekle birlikte, mekanizma tam açıklık kazanmamıştır (37). Diyabeti olmayan hastalarda yüksek abdominal yağlanma düşük serum 25(OH) D seviyesiyle ilişkili bulunmuştur (38).

Yapılan bir çalışmada; metabolik sendromu olan obez hastalarda serum 25(OH)D3 seviyesi 13,5 (3,3-32) ng/mL, metabolik sendromu olmayan obez hastalara 17,4 (5,1-37,4) ng/mL göre daha düşük belirlenmiştir. Vücut yağ kütlelerinden ve metabolik sendromun klinik belirleyicilerinden bağımsız olarak metabolik sendromlu obezlerde D vitamini yetersizliği görülmektedir. Yağ dokularında depolanan D vitamini; düşük serum 25(OH)D3 düzeyi ile metabolik sendrom arasındaki ilişkiye etkisinin olmadığı, D vitamini yetersizliğinin bağımsız metabolik sendrom belirleyicisi olduğu belirtilmektedir (39).

Yapılan bir meta analizi çalışmasının sonucunda D vitamini suplementasyonunun beden kütle indeksi (BKİ) azalmasında etkili olduğu ama yağ kütlelerinde değişiklik yapmadığı bildirilmiştir (40).

D vitamini serum paratiroid hormon (PTH) düzeyinin önemli belirleyicisidir. Artmış PTH düzeyi yağ hücrelerine kalsiyum girişine neden olarak yağlanmayı artırır. Bu nedenle PTH artışı kilo alımını tetikleyebilir. İnsan yağ hücresi modellerinde VDR



bağlayıcıları üzerinde hücre içi ve hücre dışı yapılan çalışmalarda 1,25(OH)2D'nin hücre içi kalsiyumu arttırarak yağ hücrelerinde yağ yıkımını baskıladığı ve yağ yapımını uyardığı gösterilmiştir (41).

### Hipertansiyon

D vitamini düzeyi ile kan basıncı arasında ters ilişki saptanmıştır. Bunu da 1,25(OH)2D3'ün renin gen ekspresyonunu baskılayarak gerçekleştirdiği belirtilmektedir. Bu nedenle D vitamini eksikliği hipertansiyon riskini arttırabilir. Dolayısıyla D vitamini desteğinin kalp-damar sağlığı üzerinde yararlı etkileri olabilir. D vitamini analoglarının yeni antihipertansif ajanlar olarak kullanımıyla ilgili yapılan uzun dönemli çalışmalar bu konuda yeni bir alan oluşturmuştur. Yapılan bir meta-analiz çalışmasının 12 tanesinden 10'unda 25(OH)D ile sistolik kan basıncı arasında ilişki bulunamamıştır (42).

### Dislipidemi

İnsülin direncine bağlı dislipidemi, kan trigliserid düzeyi 150 mg/dl'nin üzerinde iken, HDL düzeyi erkekler için 40 mg/dl, kadınlar için 50 mg/dl'nin altındadır (43).

Obez çocuklarda yapılan çalışmada serum 25(OH) D konsantrasyonu ile HDL arasında pozitif ilişki

saptanırken, trigliserid (TG) arasında ise negatif ilişki belirlenmiştir (44). Yaşlı insanlarda düşük D vitamini seviyesi HbA1c ve HDL ile ilişkili bulunmuştur (45).

Obez ve metabolik sendromu olan çocuklarda yapılan bir çalışmada D vitamini suplementasyonu total kolesterol, LDL ve HDL düzeyleri üzerinde etki yapmazken, trigliserid değerlerinde azalmaya neden olmuştur (25).

### Kardiyovasküler Hastalıklar

Çocukluk çağı obezitesi uzun dönemde metabolik sendromu içeren kardiyovasküler hastalık riskini etkilemektedir (46). D vitamini yetersizliğinde kardiyovasküler rahatsızlıkların ve beraberinde hipertansiyon, diyabet ve dislipidemi gibi hastalıkların oluştuğu bildirilmiştir (47). D vitaminin kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisini gösteren çalışmalar Tablo 4'de verilmiştir.

### Yağlı Karaciğer Hastalığı

Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH), alkol almayan kişilerde alkole bağlı yağlı karaciğer hastalığının histolojik özellikleri ile birlikte olan bir karaciğer hastalığıdır. Tip 2 diyabet hastalığı (Tip2 DM), hiperlipidemi ve obezite gibi güncel sorunlarla yakın ilişkilidir (51).

**Tablo 4.** D vitaminin kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisi

Referans	Çalışma detayları	İlişki durumu (Sonuçlar)
Ana ve arkadaşları (48)(2013)	83 çocuk (2-6 yaş arası) 25(OH)D=30,9 ng/mL	HOMA-IR (-) BKİ (-) LDL (-) HDL (-)
Roya ve arkadaşları (49)(2014)	1100 çocuk (10-16 yaş arası) 25(OH)D< 20 ng/mL	BKİ (-) LDL (-) HDL (+)
Wei ve arkadaşları (50)(2014)	348 koroner kalp hastası 25(OH)D< 20 ng/mL	SYNTAX skoru (-)

SYNTAX skoru: Koroner arter hastalığının şiddetini değerlendiren ölçüm aracı

Düşük D vitamini seviyeleri non-alkolik karaciğer yağlanması hastalığının şiddetinin tahmininde direkt belirleyicidir. Düşük 25(OH)D seviyesi ve yüksek PTH düzeyi non-alkolik karaciğer yağlanması rahatsızlığıyla ilişkili bulunmuştur (52).

Obezite ve metabolik sendromdan bağımsız olarak, düşük 25(OH)D3 seviyesine göre yüksek 25(OH)D3 seviyesi olan grup non-alkolik karaciğer yağlanması açısından daha düşük risk göstermektedir (53).

#### Polikistik Over Sendromu

Son yıllarda yapılan çalışmalarda D vitamini reseptör geninin polikistik over sendromunu ve polikistik over sendromlu kadınlarda insülin direncini etkilediği belirtilmektedir. VDR Taql polimorfizmi polikistik over sendromuyla ilişkilendirilmiştir (54, 55).

Yapılan bir çalışmada polikistik over sendromu olan 58 kadın ve 38 kontrol grubunun 25-hidroksi vitamin D ve insülin seviyeleri ölçülmüştür. Polikistik over sendromu olan ve kontrol grubundaki kadınlar arasında 25-hidroksi vitamin D seviyeleri açısından farklık saptanmamıştır. Polikistik over sendromlu kadınlarda düşük 25-hidroksi vitamin D seviyeleri yüksek insülin değerleriyle ilişkili bulunmuştur (56).

Polikistik over sendromu olan kadınlarda 3 ay boyunca diyetlerine günlük 12,000 IU D3 vitamini ilavesiyle insülin duyarlılığında değişiklik olmazken, 2 saatlik insülinde azalma ve kan basıncında koruyucu etki belirlenmiştir (57).

#### Kemik Mineral Yoğunluğu

Özellikle D vitamini yetersizliği olan obez menapoz sonrası kadınlarda, metabolik sendromla beraber düşük kemik mineral yoğunluğu ölçülmüştür. Bu durum osteoporotik kırılmalara neden olmaktadır (58).

Yapılan bir çalışmada, 40-86 yaş arası 73 Brezilyalı bireyin %63'ünde kemik mineral kaybı,

%76,7'sinde metabolik sendrom ve %67'sinde D vitamini yetersizliği saptanmıştır. Yüksek kemik mineral kaybı, düşük D vitamini yetersizliği ve yüksek metabolik sendrom prevalansı ile ilişkilendirilmiştir (59).

#### SONUÇ VE ÖNERİLER

D vitamini yetersizliğinin gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde giderek artan bir halk sağlığı sorunu olduğu görülmüştür. D vitamininin bilinen kemik kas sistemindeki klasik etkilerinin dışında birçok önemli fonksiyonun olduğu anlaşılmıştır. D vitamininin kardiyovasküler hastalıklar, metabolik sendrom ve Tip2 DM gibi kronik hastalıklarla ilişkili olduğu saptanmıştır. Kanda 25(OH)D düzeylerinin obezite, metabolik sendrom ve diyabetle ilişkili olduğu belirlenmiştir. D vitamini reseptör gen polimorfizmi metabolik sendrom bileşenlerinden insülin sekresyonu, insülin direnci ve HDL düzeyleriyle ilişkili bulunmuştur. Vitaminler dışarıdan alınması zorunlu besin öğeleri olarak tanımlanmasına rağmen, özellikle takviye edilmedikçe besinlerle alınan vitamin D günlük gereksinmeyi karşılamamaktadır. Somon, uskumru, sardalya, ton balığı gibi yağlı balık türleri, yumurta sarısı, süt, brokoli, yeşil soğan, maydanoz, su teresi vitamin D yönünden zengindir ama hiçbir besin günlük ihtiyacı karşılayacak kadar vitamin D içermemektedir. Bu nedenle güneş ışığı temel kaynaktır ve yeterince faydalanırsa ilave vitamin D almaya gerek yoktur. Serum 25(OH)D düzeyi <20 ng/mL olduğunda vitamin D eksikliği, 25(OH)D düzeyi >30 ng/mL ise D vitamini açısından yeterliliği ifade etmekte olup, yetişkin bireyler için günlük D vitamini gereksinimini 600 IU/gün olarak önerilmelidir. Metabolik hastalıklarda; D vitamini seviyeleri de değerlendirilmeli, D vitamini yetersizliğinin; güneş ışığından yararlanmayla, serum düzeyine göre doktor kontrolünde vitamin preparatları takviyesi kullanımıyla ilgili olarak hastalara önerilerde bulunulmalıdır. Yeterli D vitamini düzeyi metabolik hastalıklardan korunmaya yardımcı olmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 1988; 37(12): 1595-607.
2. Cameron A. The metabolic syndrome validity and utility of clinical definitions for cardiovascular disease and diabetes risk prediction. *Maturitas*, 2010; 65(2): 117-21.
3. Muszkat P, Camargo MB, Griz LH, Lazaretti-Castro M. Evidence-based non-skeletal actions of vitamin D. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2010; 54(2): 110-7.
4. Özkan B, Döneray H. D vitamininin iskelet sistemi dışı etkileri. *Çocuk Sağlığı Hast Derg*, 2011; 54(2): 99-119.
5. Chung JY, Hong SH. Vitamin D status and its association with cardiometabolic risk factors in Korean adults based on a 2008-2010 Korean National Health and Nutrition Examination Survey. *Nutr Res Pract*, 2013; 7(6): 495-2.
6. Song Y, Wang L, Pittas AG, Del Gobbo LC, Zhang C, Manson JE, Hu FB. Blood 25-hydroxy vitamin D levels and incident type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective studies. *Diabetes Care*, 2013; 36(5): 1422-8.
7. Ceballos LT. Síndrome metabólico en la infancia. *An Pediatr (Barc)*, 2007; 66(2): 159-66.
8. Arslan M, Atmaca A, Ayvaz G, Başkal N, Beyhan Z, Bolu E, ve ark. Metabolik Sendrom Kılavuzu. *Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği*, 2009.
9. Babgy, S. Obesity-initiated metabolic syndrome and the kidney: a recipe for chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*, 2004; 15(11): 2775-91.
10. Metabolik Sendrom Derneği Türkiye Sağlık Çalışması PURE TÜRKİYE; Prospective Urban Epidemiological Study, 2010.
11. Cinaz P, Aycan S. Gazi Üniversitesi/Sağlık Bakanlığı (GÜ/SB) Türkiye’de 6-17 Aylık Çocuklarda ve Annelerinde Hemoglobin Ferritin, D Vitamini Düzeyi ve Demir Eksikliği Anemisi Durum Belirleme. Yürütülen Programların Değerlendirilmesi Araştırması. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, 2011.
12. Sözen T, Yavuz Gogas D, Atmaca A. Metabolik Kemik Hastalıkları Tanı ve Tedavi Kılavuzu, ISBN:978-605-4011-14-8, Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği,1. Baskı, İstanbul, Galenos Yayınevi, 2012
13. Chon SJ, Yun BH, Jung YS, Cho SY, Choi YS, Kim SY, et al. Association between vitamin D status and risk of metabolic syndrome among Korean postmenopausal women. *PLoS One*, 2014; 9(2).
14. Gupta N, Shah P, Nayyar S, Misra A. Childhood obesity and the metabolic syndrome in developing countries. *Indian J Pediatr*, 2013; 80(1): 28-37.
15. Cheng KH, Huang SP, Huang CN, Lee YC, Chu CS, Lai WT, et al. The impact of estradiol and 1,25(OH)2D3 on metabolic syndrome in middle-aged Taiwanese males. *PLoS One*, 2013; 8 (3).
16. Kayaniyl S, Harris SB, Retnakaran R, Vieth R, Knight JA, Gerstein HC, et al. Prospective association of 25(OH)D with metabolic syndrome. *Clin Endocrinol*, 2014; 80(4): 502-7.
17. Mitri J, Nelson J, Ruthazer R, Garganta C, Nathan DM, Hu FB, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D and risk of metabolic syndrome: an ancillary analysis in the Diabetes Prevention Program. *Eur J Clin Nutr*, 2014; 68(3): 376-83.
18. Schuch NJ, Garcia VC, Vívolo SR, Martini LA. Relationship between Vitamin D Receptor gene polymorphisms and the components of metabolic syndrome. *Nutr J*, 2013; 12: 96.

19. Khan H, Kunutsor S, Franco OH, Chowdhury R. Vitamin D, type 2 diabetes and other metabolic outcomes: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Proc Nutr Soc*, 2013; 72: 89-97.
20. Holick MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr*, 2004; 79(3): 362-71.
21. Ryu YS, Coutu JP, Rosas HD, Salat DH. Effects of insulin resistance on white matter microstructure in middle-aged and older adults. *Neurology*, 2014; 82(21): 1862-70.
22. Chiu KC, Chu A, Go VL, Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr*, 2004; 79(5): 820-5.
23. Nada AM. Correlation between vitamin D3 and fasting plasma glucose, A1C and serum lipids in non-diabetic subjects. *Z.U.M.J*, 2013; 19(4).
24. Alkharfy KM, Al-Daghri NM, Yakout SM, Ahmed M. Calcitriol attenuates weight-related systemic inflammation and ultrastructural changes in the liver in a rodent model. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2013; 112(1): 42-9.
25. Kelishadi R, Salek S, Salek M, Hashemipour M, Movahedian M. Effects of vitamin D supplementation on insulin resistance and cardiometabolic risk factors in children with metabolic syndrome: a triple-masked controlled trial. *J Pediatr (Rio J)*, 2014; 90(1): 28-34.
26. Sharifi F, Mousanavisab N, Mellati AA. Defining a cutoff point for vitamin D deficiency based on insulin resistance in children. *Diabetes Metab Syndr*, 2013; 7(4): 210-3.
27. Agarwal N, Mithal A, Kaur P, Dhingra V, Godbole MM, Shukla M, et al. Vitamin D and insulin resistance in postmenopausal Indian women. *Indian J Endocrinol Metab*, 2014; 18(1): 89-93.
28. Talaei A, Mohamadi M, Adgi Z. The effect of vitamin D on insulin resistance in patients with type 2 diabetes. *Diabetol Metab Syndr*, 2013; 5(1): 8.
29. Breslavsky A, Frand J, Matas Z, Boaz M, Barnea Z, Shargorodsky M. Effect of high doses of vitamin D on arterial properties, adiponectin, leptin and glucose homeostasis in type 2 diabetic patients. *Clin Nutr*, 2013; 32(6): 970-5.
30. Rosen CJ, Adams JS, Bikle DD, Black DM, Demay MB, Manson JE, et al. The nonskeletal effects of vitamin D: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev*, 2012; 33(3): 456-92.
31. Kostoglou-Athanassiou I, Athanassiou P, Gkountouvas A, Kaldrymides P. Vitamin D and glycemic control in diabetes mellitus type 2. *Ther Adv Endocrinol Metab*, 2013; 4(4): 122-8.
32. Al-Daghri NM, Al-Attas OS, Alkharfy KM, Khan N, Mohammed AK, Vinodson B, et al. Association of VDR-gene variants with factors related to the metabolic syndrome, type 2 diabetes and vitamin D deficiency. *Gene*, 2014; 542(2): 129-33.
33. Afzal S, Bojesen SE, Nordestgaard BG. Low 25-hydroxyvitamin D and risk of type 2 diabetes: a prospective cohort study and meta analysis. *Clin Chem*, 2013; 59(2): 381-91.
34. Al-Shoumer KA, Al-Asoosi AA, Ali AH, Nair VS. Does insulin resistance in type 2 diabetes alter vitamin D status? *Prim Care Diabetes*, 2013; 7(4): 283-7.
35. Shenoy V, Datta P, Prabhu K, Singh K. Association between vitamin D, fasting blood glucose, HbA1c and fasting lipid profile in euglycemic individuals. *J Research Diabet*, 2014. Article ID: 929743.
36. Belenchia AM, Tosh AK, Hillman LS, Peterson CA. Correcting vitamin D insufficiency improves insulin sensitivity in obese adolescents: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*, 2013; 97(4): 774-81.
37. Soskić S, Stokić E, Isenović ER. The relationship between vitamin D and obesity. *Curr Med Res Opin*, 2014; 30(6): 1197-9.
38. Bhatt SP, Misra A, Sharma M, Guleria R, Pandey RM, Luthra K, et al. Vitamin D insufficiency is associated with abdominal obesity in urban Asian Indians without diabetes in North India. *Diabetes Technol Ther*, 2014; 16(6): 392-7.

39. Barchetta I, De Bernardinis M, Capoccia D, Baroni MG, Fontana M, Fraioli A ,et al. Hypovitaminosis D is independently associated with metabolic syndrome in obese patients. *PLoS One*, 2013; 8(7): e68689
40. Pathak K, Soares MJ, Calton EK, Zhao Y, Hallett J. Vitamin D supplementation and body weight status: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Obes Rev*, 2014; 15(6): 528-37.
41. Zemel MB, Shi H, Greer B, Dirienzo D, Zemel PC. Regulation of adiposity by dietary calcium. *FASEB J*, 2000; 14(9): 1132-38.
42. Dolinsky DH, Armstrong S, Mangarelli C, Kemper AR. The association between vitamin D and cardiometabolic risk factors in children: a systematic review. *Clin Pediatr (Phila)*, 2013; 52: 210-23.
43. Grundy SM. Hypertriglyceridemia, insulin resistance, and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol*, 1999; 83(9): 25-9.
44. Kim M, Na W, Sohn C. Correlation between vitamin D and cardiovascular disease predictors in overweight and obese Koreans. *J Clin Biochem Nutr*, 2013; 52(2): 167-71.
45. Kashi Z, Saeedian Fs, Akha O, Gorgi Ma, Emadi Sf, Zakeri H. Vitamin D deficiency prevalence in summer compared to winter in a city with high humidity and a sultry climate. *Endocrinol Pol*, 2011; 62(3): 249-51.
46. Conceic, ão-Machado ME, Silva LR, Santana ML, Pinto EJ, SilvaRde C, Moraes LT, et al. Hypertriglyceridemic waist phenotype: association with metabolic abnormalities in adolescents. *J Pediatr (Rio J)*, 2013; 89(1): 56-63.
47. Miñambres I, Sánchez-Quesada JL, Sánchez-Hernández J, Rodríguez J, de Leiva A, Pérez A. Vitamin D concentrations in familial combined hyperlipidemia: effects of lipid lowering treatment. *Diabetol Metab Syndr*, 2014; 6(1): 7.
48. Creo AL, Rosen JS, Ariza AJ, Hidaka KM, Binns HJ. Vitamin D levels, insulin resistance, and cardiovascular risks in very young obese children. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2013; 26(1-2): 97-104.
49. Kelishadi R, Ardalan G, Motlagh ME, Shariatinejad K, Heshmat R, Poursafa P, et al. National report on the association of serum vitamin D with cardiometabolic risk factors in the pediatric population of the Middle East and North Africa (MENA): the CASPIAN-III Study. *Nutrition*. 2014; 30(1): 33-8.
50. Chen WR, Qian YA, Chen YD, Shi Y, Yin da W, Wang H, et al. The Effects of Low vitamin D on coronary artery disease. *Heart Lung Circ*, 2014; 23(4): 314-9.
51. Kara M, Erdal M. Sıklığı Artan Bir halk Sağlığı Sorunu: Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı. *TAF Prev Med Bull*, 2014; 13(1): 65-76.
52. Dasarathy J, Periyalwar P, Allampati S, Bhinder V, Hawkins C, Brandt P, et al. Hypovitaminosis D is associated with increased whole body fat mass and greater severity of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int*, 2013; 34(6): 118-27.
53. Rhee EJ, Kim MK, Park SE, Park CY, Baek KH, Lee WY, et al. High serum vitamin D levels reduce the risk for nonalcoholic fatty liver disease in healthy men independent of metabolic syndrome. *Endocr J*, 2013; 60(6): 743-52.
54. El-Shal AS, Shalaby SM, Aly NM, Rashad NM, Abdelaziz AM. Genetic variation in the vitamin D receptor gene and vitamin D serum levels in Egyptian women with polycystic ovary syndrome. *Mol Biol Rep*, 2013; 40(11): 6063-73.
55. Bagheri M, Abdi Rad I, Hosseini JN, Nanbakhsh F. Vitamin D receptor taql gene variant in exon 9 and polycystic ovary syndrome risk. *Int J Fertil Steril*, 2013; 7(2): 116-21.

56. Gdc N, Grmş U, Kutay SS, Kavak ZN, Dnder I. 25-Hydroxyvitamin D levels are related to hyperinsulinemia in polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*, 2014; 30(8): 557-60.
57. Raja-Khan N, Shah J, Stetter CM, Lott ME, Kunselman AR, Dodson WC, et al. High-dose vitamin D supplementation and measures of insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: a randomized, controlled pilot trial. *Fertil Steril*, 2014; 101(6): 1740-6.
58. Sun M, Cao M, Fu Q, Zhu Z, Meng C, Mao J, et al. Association of calcaneal quantitative ultrasound parameters with metabolic syndrome in middle-aged and elderly Chinese: a large population-based cross-sectional study. *BMC Endocr Disord*, 2014; 14: 14.
59. da Rocha AK, Bos AJ, Carmenaz G, Machado DC. Bone mineral density, metabolic syndrome, and vitamin D in indigenous from south of Brazil. *Arch Osteoporos*, 2013; 8(1-2): 134.

## Meme kanseri mikrodizin verilerinin biyoinformatik yöntemler ile bir araya getirilmesi - Meta-analiz yaklaşımları

### Combination of breast cancer microarray data by using bioinformatic methods - Meta-analysis approaches

Yasemin ÖZTEMUR<sup>1</sup>, Alp AYDOS<sup>1</sup>, Bala GÜR-DEDEOĞLU<sup>1</sup>

#### ÖZET

Meme kanseri kadınlarda en yaygın görülen kanser türüdür ve akciğer kanserinden sonra kadınlarda kanser ölümlerinde ikinci sıradadır. Çok sebepli, kompleks bir genetik hastalık olan meme kanseri moleküler düzeyde detaylı bir şekilde çalışılmış ve yüksek işlem hacimli mikrodizin çalışmaları sayesinde moleküler alt tiplere sınıflandırılmıştır. Meme kanserine sebep olan ve gelişiminde rol oynayan pek çok gen tespit edilmiş olsa da meme kanserinin regülasyonunda rol oynayan moleküler mekanizmalar hala tam olarak açıklanamamıştır. Bu eksiklik, meme kanseri oluşumunu öngörücü yeni biyobelirteçlerin aranmasını zorunlu kılmıştır. Yüksek işlem hacimli bir yöntem olan mikrodizin aynı anda binlerce genin ifadesinin belirlenmesine olanak sağlamaktadır. Mikrodizin yöntemi ile elde edilmiş ham ve işlenmiş verilerin, hatta deneylerde kullanılan örneklerin klinik ve/ veya patolojik özelliklerinin bulunduğu halka açık veritabanları bulunmaktadır. Mikrodizin veritabanlarına yüklenmiş olan bağımsız mikrodizin verilerinden daha fazla bilgi sağlamak meta-analiz yöntemiyle mümkün olmakta ve var olan veriyi değerli kılmaktadır. Meta-analiz yöntemleri farklı kanser tiplerinde ve çeşitli hastalıklarda her geçen gün daha fazla kullanılmaktadır. Meme kanserinde de meta-analiz çalışmaları çok fazla olmamakla birlikte sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Bu yöntem hastalığın tanısını ve gidişatını öngörebilecek ayrıca tedavisine katkı sağlayabilecek yeni biyobelirteçlerin belirlenmesini mümkün kılmaktadır. Ciddi bütçelerle yapılan mikrodizin

#### ABSTRACT

Today breast cancer is one of the major cancer types among women in the world. After lung cancer, it is the second leading cause of cancer death in women. Breast cancer is a multi-factorial and complex genetic disease, which was studied in detail at the molecular level. With the use of microarray technology breast cancer was classified into molecular subtypes. Although some genes were found to be responsible for the development and the progression of the disease, many of the molecular mechanisms underlying breast cancer progression remain poorly understood. This deficit has led to significant interest in the quest for novel predictive markers for breast cancer. Microarray is a high throughput technique, which provides to detection of thousands of genes' expression. There are many publicly accessible databases, which have raw and processed data of microarray analysis and clinical and /or pathological information of samples. Meta-analysis approaches are provided more information from independent microarray datasets, which were uploaded on publicly accessible databases. Meta-analysis approaches are used for different cancer types and various diseases including breast cancer increasingly in recent years. These methods allow the finding of predictive biomarkers for the development and progression of the disease while they can also be used for new or alternative targets for the treatment of the disease. Meta-analysis might

<sup>1</sup> Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Merkez Laboratuvarı, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Bala GÜR-DEDEOĞLU

Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Merkez Laboratuvarı, ANKARA

Tel : +90 312 222 58 26

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

Geliş Tarihi / Received : 26.09.2014

Kabul Tarihi / Accepted : 09.10.2014

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.54254

Öztemur Y, Aydos A, Gür-Dedeoğlu B. Meme kanseri mikrodizin verilerinin biyoinformatik yöntemler ile bir araya getirilmesi - Meta-analiz yaklaşımları. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 2015; 72(2): 155-62.

çalışmalarının çeşitli meta-analiz yöntemleriyle bir araya getirilmesi her bir çalışmanın kendi başına ortaya çıkaramayacağı sonuçların alınmasında önemlidir. Meta-analiz çalışması pek çok veriyi bir araya getirme şansı tanıdığı için, elde edilen sonuçlar yalnızca bir vakaya özel değil; daha genel bilgiyi yansıtmaktadır. Bu nedenle meme kanserinin de içerisinde bulunduğu birçok hastalığı mekanizmaların meta-analiz yöntemlerinin yardımıyla detaylı ve kapsamlı bir şekilde araştırılmasının tanı ve tedavi için alternatif ve etkin hedeflerin belirlenmesine olanak sağlaması mümkündür.

**Anahtar Kelimeler:** Meme kanseri, mikrodizin, meta-analiz

increase the knowledge by gathering and processing individual microarray datasets. Accordingly it is predicted that new or alternative targets might be identified by researching on numerous disease mechanisms including breast cancer.

**Key Words:** Breast cancer, microarray, meta-analysis

## GİRİŞ

### 1. MEME KANSERİ

Meme kanseri ile ilgili ilk yazılı bilgi dünyanın en eski cerrahi dokümanı olarak bilinen ve M.Ö. 3000-2500 yıllarına ait Edwin Smith Papirüslerinde yer almaktadır. Antik Mısır'a ait bu metinde hastalığın başarılı tedavisinin mümkün olmadığı bildirilmiştir (1).

#### 1.1. Meme Kanseri Görülme Sıklığı

Meme kanseri kadınlarda en yaygın görülen kanser türüdür ve akciğer kanserinden sonra kadınlarda kanser ölümlerinde ikinci sıradadır (2, 3). Amerikan Kanser Derneği'nin son istatistiklerine göre her 8 kadından 1 tanesinde invaziv meme kanseri gelişmektedir ve 2013 tahminlerine göre;

- Yaklaşık 232,340 yeni kadın hastaya invaziv meme kanseri teşhisi konulacak.
- Yaklaşık 64,640 yeni vaka karsinoma in situ (meme kanserinin erken ve yayılmamış tipidir) teşhisi alacak.
- Yaklaşık 39,620 kadın ise meme kanseri sebebi ile ölecek (2).

#### 1.2. Memenin Yapısı

Normal meme dokusu lobül (süt üreten doku) denilen yapıların bir araya gelmesiyle oluşan lob (süt

bezi), meme başına süt taşıyan duktus (süt kanalları) ve yağ dokusundan oluşmaktadır. Duktus ve lobüller çevre dokulardan bazal membran ile ayrılmaktadır.

#### 1.3. Meme Kanserinin Sınıflandırması

Meme kanseri kompleks ve tek sebebe bağlı olmayan genetik bir hastalıktır (4). Kalıtsal, ailesel ve sporadik olarak 3 grupta incelenmektedir. Ailede bir veya daha fazla kişide meme kanseri görülmesi halinde buna ailesel meme kanseri denilmektedir. Meme kanseri ile birebir ilişkisi tespit edilmiş olan BRCA1 ve BRCA2 genlerinde mutasyon olması, ailedeki kanserlerin erken yaşta görülmesi, ailede erkeklerde de meme kanseri görülmesi hastalığın kalıtsal olduğunu işaret etmektedir. Kalıtsal meme kanseri durumundaki kişilerin yaşamları boyunca meme kanserine yakalanma riskleri %85 gibi çok yüksek oranlarda bulunmuştur. Bu iki grubun dışında kalanlar ise ailesel ve kalıtımsal bir bağlantısı olmayan sporadik (tesadüfi/rastlantısal) meme kanserleridir (2).

Meme kanserine sebep olan ve gelişiminde rol oynayan pek çok gen (BRCA1 ve BRCA2 gibi) tespit edilmiş olsa da regülasyonunda rol oynayan moleküler mekanizmalar hala tam olarak açıklanamamıştır. Yüksek işlem hacimli mikrodizin tabanlı ifade profili



teknolojilerinin gelişmesi meme kanserinde büyük ölçekli çalışmaları kolaylaştırmış ve meme kanserinin nedenlerini ve oluşumunu aydınlatarak pek çok veri elde edilmiş ve yeni biyobelirteçler ile özgün ve tedaviye yönelik hedefler belirlenebilmiştir (4).

Meme tümörleri; morfolojik, klinik, hormon reseptör düzeyi, tedaviye yanıtına göre farklı özellikleri olan, heterojen tümörlerdir. Bu farklılığın sebebi, altta yatan hedef hücre (kanseri hücresi) sayısındaki farklılık, farklı onkogen aktivasyonu ve/veya tümör baskılayıcı gen fonksiyon kayıplarındaki değişik kombinasyonlardır (5). Bu nedenle histolojik ve patolojik sınıflandırmanın yanında ifade mikrodizinin çalışmaları sayesinde meme kanseri moleküler olarak da sınıflandırılmıştır ve bu sınıflandırmanın daha kuvvetli olduğu açıktır (6, 7).

### 1.3.1. Meme Kanserinin Histolojik Sınıflandırılması

Meme kanserinin histolojik sınıflandırması temel olarak kanserin hangi yapıdan geliştiğine ve yayılma tipine göredir. Duktuslardan yani süt kanallarından ya da lobüllerden yani süt bezlerinden gelişmesine göre iki tiptir. Yapının dışına yayılmasıyla invaziv, yapının içerisinde kalmasıyla in situ olarak adlandırılır. Bunlar;

**Duktal Meme Kanseri:** Süt kanallarından gelişir, en fazla görülen kanser tipidir.

- **Duktal Karsinoma in situ (DCIS):** Meme kanserinin en erken ve in situ tiplerinin en fazla görülen formudur, anormal hücreler meme dokusuna yayılmamıştır. Ancak yapılan çalışmalar tedavi uygulanmadığı takdirde DCIS'nin 1/3 oranda invaziv kansere dönüştüğünü göstermektedir.
- **İnvaziv Duktal Karsinom (IDC):** Kanseri önce kanal içinde başlar sonra kanal duvarını aşar ve meme dokusuna bazen de meme dışına yayılım gösterir. İnvaziv meme kanserlerinin yaklaşık %80'ini oluşturur.

**Lobüler Meme Kanseri:** Süt bezlerinden gelişir ve duktal meme kanserlerine göre daha seyrek görülür.

- **Lobüler Karsinoma in situ (LCIS):** Lobüllerde anormal hücrelerin bulunmasıdır ve yüksek meme kanseri riskini gösterir.
- **İnvaziv lobüler Kanseri (ILC):** Kanseri hücrelerinin lobüllerin dışına geçtiği formudur. Hücreler meme içi veya meme dışına yayılmıştır (2, 8).

### 1.3.2. Meme Kanserinin Patolojik Sınıflandırması

Meme kanserinin patolojik sınıflandırması temel olarak bazı reseptörlerin fazlalığına ve azlığına göre yapılır. Östrojen, progesteron ve HER2 reseptörlerinde fazlalık varsa pozitif, tersi durumda negatif olarak adlandırılır. Üç reseptör tipini de bulandırmayan halde ise 3'lü negatif olarak isimlendirilir. Bu şekilde patolojik olarak; ER+, ER-, PR+, PR-, HER2+, HER2- ve 3'lü negatif olmak üzere 7 çeşittir.

HER2'nin aşırı ifade edilmesi meme kanseri hastalarının %20-30'unda görülmektedir. Tümörü HER2 ifadesi gösteren hastaların hayatta kalma ve hastalığın tekrarlama süreleri kısadır. Ayrıca HER2 ifadesi artan tümörlerin standart kemoterapiye direnç gösterdiği bilinmektedir (9, 10). Trastuzumab (Herceptin) HER2 reseptörlerin hücre-dışı kısmını hedefleyerek fonksiyonunu bloke etmek için tasarlanmış bir ilaçtır ve HER2+ hastalarda kullanılmaktadır. Bu tedaviyi alan hastaların ömür uzunluğunun arttığı ve hastaların %26-31'lik bir kısmının ilaca cevap verdiği gösterilmiştir (11, 12).

Meme kanserlerinin yaklaşık %75'i östrojen pozitifdir (ER+) ve östrojen hormonuna yanıt olarak gelişim gösterirler. ER+ meme kanserlerinde uygulanan 5 yıllık tamoxifen tedavisi kanserin 10 yıl içerisinde tekrarlama ihtimalini %39 oranda azaltırken, ortalama yaşam süresini 15 yıla kadar uzatabilmektedir (2, 13).

Reseptör ifade varlığına göre yapılan patolojik sınıflandırmalar, meme kanseri hastalarının tedavi sürecine karar verilmesi ve genel olarak reseptörler hedef alınarak geliştirilen ilaçların (trastuzumab ve tamoxifen gibi) doğru kullanılması açısından büyük önem taşımaktadır.

### 1.3.3. Meme Kanserinin Moleküler Sınıflandırması

Meme kanserinin kompleks bir hastalık olması ve meme tümörlerinin farklı özelliklere sahip heterojen tümörler olması, hastalığın regülasyonundaki mekanizmaların açıklanmasını ve bunun sonucunda da tedaviyi zorlaştırmaktadır (4, 5). Bu eksiklik yeni biyobelirteçlerin aranmasını zorunlu kılmıştır ve ifade mikrodizin çalışmaları sayesinde, histolojik ve patolojik sınıflandırmanın yanında meme kanseri moleküler olarak da sınıflandırılmıştır (6, 7).

Meme kanseri, Perou ve arkadaşları tarafından 2000 yılında yapılan kapsamlı ve çığır açan gen ifade analizi çalışmasıyla önce luminal hücre benzeri, bazal hücre benzeri, normal epitel benzeri ve HER2+ grup olarak 4'e ayrılmıştır (6). Daha sonra ise luminal tipin de kendi arasında luminal A ve luminal B olarak gruplanması ile 5 alt tipe ayrılmıştır (7). Son olarak 2007 yılında yapılan çalışma ile bu alt tiplere sıkı bağlantı proteinleri claudin 3, 4 ve 7 ve bir Ca bağımlı hücre-hücre adezyon glikoproteini olan E-cadherin'in düşük gen ifadeleri ile karakterize claudin low eklenmiştir. Böylece moleküler olarak meme kanseri 6 alt tipe ayrılmıştır (14).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda mikroRNA'ların bulunması ve hücrede çok önemli işlevlere sahip olduklarının gösterilmesi bu molekülleri de meme kanseri oluşumunda ve gelişiminde rol alan şüpheliler listesine koymuştur ve mRNA ifade profilleri ile açıklanamayan farklılıklar miRNA çipleri ile araştırılmaya başlanmıştır. miRNA çipleri sayesinde meme kanserine sebep olabilecek hedef miRNA'lar bulunmaya başlanmıştır ancak bu konuda sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (15).

İfade (gen ve miRNA) çalışmalarının artması, bu sayede meme kanserinin moleküler alt gruplarını daha detaylı tanımlayacak standart yöntemlerin geliştirilmesi, moleküler tiplerin yeni alt gruplarının ortaya çıkması, bu grupların tanı ve tedaviyi yönlendirmesi beklenen gelişmelerdir.

## 2. MİKRODİZİN YÖNTEMİ

Moleküler biyolojideki geleneksel metotlar genellikle bir deneyde bir lokus analizi ile sınırlıdır (16). Bu demektir ki gen fonksiyonlarının bütün resmini görmek bu yöntemlerle zordur. Mikrodizin teknolojisi ile bir organizmaya ait bütün genom bir çip üzerinde görüntülenebilmekte ve bu sayede aynı anda binlerce genin birbirleriyle olan etkileşimlerini görmek mümkün olmaktadır. DNA mikrodizin yöntemi aktif proteinlere çevrilebilen ya da çevrilemeyen RNA'ların saptanmasında kullanılabilir ve bu tip analizler "ifade analizi" şeklinde adlandırılır. Mikrodizin genellikle katı yüzeyler (çip) üzerindeki küçük alanlara yerleştirilmiş tek iplikli diziler (prob) aracılığıyla bir genomda depolanmış olan bilgilerin hibridizasyon temeline dayanan bir yöntemle incelenmesi tekniğidir. Bu yöntem ile bir organizmanın tüm genleri çok küçük bir alanda incelenebilir ve bu sayede binlerce genin ifade seviyeleri aynı anda çalışılabilir (17).

### 2.1. Mikrodizin Platformları

Mikrodizin teknolojisi için kullanılan çipler günümüzde çok çeşitli firmalar tarafından üretilmektedir. Bu firmalar araştırmacıların istedikleri çipleri de tasarlayabilmektedir. Affymetrix, Illumina, Agilent ve Exiqon bu firmalardan en bilinenler arasında sayılabilir.

### 2.2. Mikrodizin Veritabanları

Mikrodizin ham verilerinin, hatta deneylerde kullanılan örneklerin klinik ve/ veya patolojik özelliklerinin bulunduğu veritabanları bulunmaktadır. Bu veritabanları, çalışmaların verilerinin ve yapılaş şekillerinin belli bir standartta ulaşılabilir olması için koyulan MIAME (Minimum information about a microarray experiment) kriterleri doğrultusunda veri ve bilgi paylaşımı yapmaktadır. MIAME kriterlerine göre ham veri, işlenmiş veri, deney ile ilgili doz vb. temel bilgiler, örnek-veri ilişkileri de dahil olmak üzere deneysel tasarım, platform ile ilgili gen tanımlayıcılar ve genomik koordinatlar gibi anotasyon bilgileri, gerekli laboratuvar ve veri

işleme protokolleri (ör: normalizasyon yöntemi) bu veritabanlarında ulaşılabilir olmalıdır (18).

Bu halka açık veritabanlarından en önemlileri şunlardır;

- **Gene Expression Omnibus:** GEO (19).
- **ArrayExpress** (20).

#### **Gene Expression Omnibus (GEO):**

Gene Expression Omnibus Amerika kökenli ve dünyanın en kapsamlı biyolojik veritabanı olan NCBI'nin (National Center for Biotechnology Information) altındaki mikrodizin veritabanıdır. Günümüz itibariyle bu veritabanında 50.809 çalışma (bu çalışmaların 3.847'si GEO çalışanlarınca kontrol edilmiş olan "dataset" lerdir.), bu çalışmaların içinde toplam 1.237.312 örnek ve 13.386 çeşit platform bulunmaktadır.

#### **ArrayExpress:**

ArrayExpress Avrupa kökenli büyük ve kapsamlı bir biyolojik veritabanı olan EBI'nin (The European Bioinformatics Institute) altındaki mikrodizin veritabanıdır. Günümüz itibariyle bu veritabanında 52.801 çalışma ve bu çalışmaların içinde toplam 155.5904 örnek bulunmaktadır.

GEO ve ArrayExpress veritabanlarını kullanarak çalışmalar ve çalışmaların yapıldığı platformlar hakkında kapsamlı bilgi edinmek, bu platformlarda yapılan başka çalışmalara erişmek, örneklerin klinik bilgilerine ulaşmak ve basit analizler yapmak mümkündür.

### **3. META-ANALİZ**

Meta-analiz, aynı konuda farklı yer, zaman ver merkezlerde yapılmış olan araştırma sonuçlarını niteliksel ve niceliksel olarak birleştirmeye yardımcı olan istatistiksel bir yöntemdir (21).

Veritabanlarına yüklenmiş olan bağımsız mikrodizin ham verilerinden daha fazla bilgi sağlamak meta-analiz yöntemiyle mümkün olmakta ve var olan veriyi değerli kılmaktadır. Ciddi bütçelerle yapılan mikrodizin çalışmalarının çeşitli meta-analiz yöntemleriyle bir araya getirilmesi her

bir çalışmanın kendi başına ortaya çıkartamayacağı sonuçların alınmasında önemlidir. Örneğin meme kanserinde farklı ifade edilen transkriptlerin bulunmasına yardımcı olurken, meme kanseri oluşumunu ve gelişimini daha iyi anlayabilmek için kullanılacak genellenmiş ve sabit biyobelirteçler elde edilmesine de olanak sağlamaktadır. Meta-analiz çalışması pek çok veriyi bir araya getirme şansı tanıdığı için, elde edilen sonuçlar yalnızca bir vakaya özel değildir ve daha genel bilgiyi yansıtmaktadır. Meta-analiz yönteminde, farklı çalışmalardan elde edilen verilerin bir araya getirilmesi aşamasında en büyük problem verilerin farklı platformlardan geliyor olmasıdır ve çoğu meta-analiz yaklaşımında farklı platformlara ait verilerin birbirleriyle kıyaslanabilir hale getirilmesi için ortak bir normalizasyon yönteminden geçirilmeleri gerekmektedir. GEO ve ArrayExpress gibi veritabanlarından ham verilere ulaşmanın en büyük faydası karar verilen normalizasyon yönteminin işlenmemiş verilere eşit koşullarda uygulanabilmesidir.

Genel anlamda meta-analiz yaklaşımları iki büyük grupta incelenebilir. Bunlardan ilki çalışmaların önce bireysel olarak analiz edilmesi ve sonrasında sonuçların istatistiksel yöntemler kullanılarak bir araya getirilmesidir, ikincisi ise çalışmaların ham verilerinin hiçbir işlemden geçirilmeden ve bütün farklılıklar yok sayılarak bir araya konulması ve tek bir çalışma gibi analiz edilmesidir (Naive meta-analiz yöntemi). Bu yöntem, çalışmaların farklı laboratuvarlarda, farklı platformlarda ve farklı zamanlarda gerçekleştirildiği düşünülürse istatistiksel yöntemlerle güçlendirilen diğer yöntemlere göre daha fazla veri kaybına sebep olabilir. Bu genel gruplandırmanın altında meta-analiz yöntemleri çok çeşitli ve birçok parametreye bağlı olarak neredeyse her çalışmanın kendisine özgüdür. Çalışmaların yapılış şekline göre bir araya getirilirken bazı etkiler yok sayılmakta, bazıları ise dahil edilmektedir (ör: platform etkisi).

#### 4. MEME KANSERİ MİKRODİZİN VERİLERİNE UYGULANMIŞ META-ANALİZ YAKLAŞIMLARI

Meta-analiz yöntemleri farklı kanser tiplerinde ve çeşitli hastalıklarda her geçen gün daha fazla kullanılmaktadır. Meme kanserinde meta-analiz çalışmaları çok fazla olmamakla birlikte sayısı ve değeri gün geçtikçe artmaktadır.

- 2008 yılında Gür Dedeoğlu ve arkadaşları tarafından yapılan meta-analiz çalışmasında tekrar örnekleme tabanlı bir strateji geliştirilmiş ve 2 bağımsız çalışma bir araya getirilerek meme tümör ve normal dokuları arasında ayırıcı olabileceği öngörülen, farklı ifade gösteren genler tespit edilmiştir (22).
- 2008 yılında Smith ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ER statülerine göre gruplanmış 9 veri seti kullanılmıştır. Bu çalışmada verileri bir araya getirmek için p değerlerinin birleştirilmesinde kullanılan Fisher metodu modifiye edilmiştir (23).
- 2008 yılında Thomassen ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada metastatik olan ve metastatik olmayan meme kanseri tümörlerinde farklı düzenlenen yolların tanımlanması için “yolak analizi üzerinden meta-analiz” çalışması yapılmıştır. Her çalışma için yolak analizi yapılmış ve bu yolaklarda ifadesi artan ve azalan gen sayıları bulunmuştur. Yapılan yolak analizi sonucunda birleştirilen verilere göre; DNA hasar ve onarım yolağının metastatik meme tümörlerinde ifadesi artmıştır, kontrolsüz hücre döngüsü normal hücrelerle karşılaştırıldığında metastatik hücrelerde karakterizedir (24).
- 2012 yılında Phan ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise 6 veri seti kullanılmıştır ve örnekler ER statülerine göre gruplandırılmışlardır. Çalışma oldukça kapsamlıdır, meme kanseriyle birlikte böbrek ve pankreas kanserlerini de içmektedir. Verileri bir araya getirmek için kendi geliştirdikleri sıralama tabanlı “Rank average” metoduyla birlikte, başka çalışmalarda denenmiş olan beş ayrı (mDEDS, rank products, Choi, Wang ve naive)

meta-analiz yöntemi daha uygulanmıştır. “Rank average” sıralama tabanlı bir yöntem olduğu için özellikle platform farklılıklarının ortadan kaldırılmasında avantajlı bir yöntemdir. “FC, T, SAM, RS, mRMRD, mRMRQ” gibi altı ayrı istatistiksel anlamlılık testinden elde edilen sıralamaların birleştirilmesiyle oluşturulduğu için de oldukça güvenilirdir (25).

#### SONUÇ

Bu derlemenin amacı meme kanseri mikrodizin verilerinin çeşitli meta-analiz yöntemleri ile bir araya getirildiği çalışmaların araştırılması ve meta-analiz yaklaşımlarının bağımsız verilerden anlamlı bilgi elde etmekteki öneminin altını çizmektir.

Meta-analiz yukarıda da bahsedildiği gibi, verileri istatistiksel yöntemler kullanarak bir araya getirmeyi amaçlayan bir yöntemdir ve birçok çalışmadan gelen bilgiler bir araya getirildiği için tek çalışmayla sınırlı kalmayan daha genel bir bilgiye ulaşmayı sağlayan güçlü bir araçtır.

#### Meta-analiz yöntemleri;

- Örnek miktarının arttırılması ve bu sayede istatistiksel olarak daha anlamlı çalışmalar elde edilmesi,
- Dağınık bilginin toparlanması,
- Her bir çalışmanın kendi başına ortaya çıkaramayacağı sonuçların elde edilmesi,
- Genellenmiş ve sabit biyobelirteçler bulunma ihtimalinin fazlalığı nedeni ile son yıllarda sıklıkla kullanılmaktadır.

Bu yöntem dünyada en çok çalışılan hastalıklardan biri olmasına rağmen henüz mekanizması tam olarak çözümlenememiş olan meme kanserinin oluşumunu ve gelişimini daha iyi anlamak, dolayısıyla yeni ve sabit tedavi yöntemleri geliştirebilmek için kullanılabilir. Şüphesiz ki çok daha güçlü yaklaşımlar ve yöntemler geliştirilecek ve bu da bizi meme kanserinin de içerisinde bulunduğu birçok hastalığın tedavisinde ve teşhisinde kullanılabilecek biyobelirteçlere götürecektir.

## KAYNAKLAR

1. Oldenburg R, Meijers-Heijboer H, Cornelisse C, Devilee P. Genetic susceptibility for breast cancer: how many more genes to be found? *Critical Rev Oncol/Hematol*. 2007; 63(2): 125-149.
2. <http://www.cancer.org> (Erişim tarihi: 23.09.2014)
3. Rakha EA, Reis-Filho JS, Baehner F, Dabbs DJ, Decker T, Evsebi V, et al. Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. *Breast Cancer Res*, 2010; 12(4): 207.
4. Bertos NR, Park M. Breast cancer-one term, many entities? *J Clin Invest*, 2011; 121(10): 3789.
5. Gusterson BA, Ross DT, Heath VJ, Stein T. Basal cytokeratins and their relationship to the cellular origin and functional classification of breast cancer. *Breast cancer research : BCR*, 2005; 7(4): 143-8.
6. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, Van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*, 2000; 406(6797): 747-52.
7. Sørlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc N Acad Sci USA*. Jul 8 2003; 100(14): 8418-23.
8. Siziopikou KP. Ductal Carcinoma In Situ of the Breast: Current Concepts and Future Directions. *Arch Pathol Lab Med*, 2013; 137(4): 462-6.
9. Rosen PP, Lesser ML, Arroyo CD, Cranor M, Borgen P, Norton L. Immunohistochemical detection of HER2/neu in patients with axillary lymph node negative breast carcinoma. A study of epidemiologic risk factors, histologic features, and prognosis. *Cancer*, 1995; 75(6): 1320-6.
10. Gusterson BA, Gelber RD, Goldhirsch A, Price KN, Säve-Söderborgh J, Anbazhagan R, et al. Prognostic importance of c-erbB-2 expression in breast cancer. International (Ludwig) Breast Cancer Study Group. *J Clin Oncol*, 1992; 10(7): 1049-56.
11. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med*, 2001; 344(11): 783-92.
12. Marty M, Cognetti F, Maraninchi D, Snyder R, Mauriac L, Tubiana-Hulin M, et al. Randomized phase II trial of the efficacy and safety of trastuzumab combined with docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer administered as first-line treatment: the M77001 study group. *J Clin Oncol*, 2005; 23(19): 4265-74.
13. den Hollander P, Savage MI, Brown PH. Targeted therapy for breast cancer prevention. *Front Oncol*, 2013; 3.
14. Herschkowitz JI, Simin K, Weigman VJ, Mikaelian I, Usaty J, Itu Z, et al. Identification of conserved gene expression features between murine mammary carcinoma models and human breast tumors. *Genom Biol*, 2007; 8(5): 76.
15. Romero-Cordoba S, Rodriguez-Cuevas S, Rebollar-Vega R, Quintanar-Jurado V, Maffuz-Aziz A, Jimenes-Sanchez G, et al. Identification and pathway analysis of microRNAs with no previous involvement in breast cancer. *PloS One*, 2012; 7(3): 31904.
16. Yulug IG, Gur-Dedeoglu B. Functional genomics in translational cancer research: focus on breast cancer. *Brief Func Gen Proteomic*, 2008; 7(1): 1-7.
17. Gershon D. Microarray technology: an array of opportunities. *Nature*, 2002; 416(6883): 885-91.
18. Brazma A, Hingamp P, Quackenbush J, et al. Minimum information about a microarray experiment (MIAME)—toward standards for microarray data. *Nat Genet*, 2001; 29(4): 365-71.
19. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo> (Erişim tarihi: 23.09.2014)
20. <http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress> (Erişim tarihi: 23.09.2014)

21. Normand S-LT. Tutorial in biostatistics meta-analysis: formulating, evaluating, combining, and reporting. *Stat Med*, 1999; 18(3): 321-59.
22. Gur-Dedeoglu B, Konu O, Kir S, Ozturk AR, Bozkurt B, Ergul G, Yulug IG. A resampling-based meta-analysis for detection of differential gene expression in breast cancer. *BMC Cancer*, 2008; 8: 396.
23. Smith D, Sætrom P, Snøve O, et al. Meta-analysis of breast cancer microarray studies in conjunction with conserved cis-elements suggest patterns for coordinate regulation. *BMC Bioinformatic*, 2008; 9(1): 63.
24. Thomassen M, Tan Q, Kruse TA. Gene expression meta-analysis identifies metastatic pathways and transcription factors in breast cancer. *BMC Cancer*, 2008; 8: 394.
25. Phan JH, Young AN, Wang MD. Robust microarray meta-analysis identifies differentially expressed genes for clinical prediction. *Sci World J*, 2012; 2012: 989637.

## Pet hayvanlardan insanlara bulaşan önemli bakteriyel enfeksiyonlar

### Important bacterial infections transmitted to humans from pet animals

Gökçen DİNÇ<sup>1</sup>, Mehmet DOĞANAY<sup>2</sup>, Müjgan İZGÜR<sup>3</sup>

#### ÖZET

Son yıllarda ülkemizde ve tüm dünyada ev hayvanları aile yaşamı içerisinde daha çok yer almaya başlamıştır. Daha önceleri kedi, köpek, kuş gibi hayvanlar daha sıklıkla sahiplenilirken, günümüzde pet hayvan yelpazesi oldukça genişlemiş olup bu hayvanların yanı sıra hamster, fare, sıçan, yılan, kertenkele, timsah gibi hayvanlar da tercih edilmeye başlanmıştır. Pet hayvanlar, bireylerin kendilerini psikolojik ve fizyolojik olarak daha iyi hissetmelerini sağlamaktadır. Evcil hayvan sahibi olanların olmayanlara göre daha düşük kan basıncına ve kolesterol düzeyine sahip oldukları, daha az ilaç kullandıkları, kalp hastalıklarına daha az yakalandıkları da belirtilmektedir. Ancak evde hayvan besleme alışkanlığı arttıkça insanların zoonotik hastalıklar ile karşı karşıya kalma riskleri de artmaktadır. Pet hayvanlardan insanlara bulaşabilen çok sayıda bakteriyel, viral, paraziter ve fungal enfeksiyon söz konusudur. Bu enfeksiyonlar çoğunlukla ısırık, çizik, solunum ya da sindirim yoluyla bulaşır. İnsanlarda ısırılmak ya da tırmalanmak suretiyle gelişen pastorelloz, bartonelloz ve çeşitli aerobik ya da anerobik bakteriyel enfeksiyonlar daha yaygın görülürken, kampilobakteriyoz, salmonelloz gibi gastrointestinal sistem enfeksiyonları; dermatofitozlar, uyuz gibi deri hastalıkları; psittakoz gibi solunum yolu hastalıkları ve toksoplazmoz, leishmanyoz gibi multisistemik hastalıklar daha az görülmektedir. Küçük çocuklar, hamileler ve bağışıklığı baskılanmış bireyler bu enfeksiyonlara karşı daha fazla risk altındadırlar. Bu enfeksiyonlardan korunmada hayvan

#### ABSTRACT

In recent years, pets have started to be more commonly in family life, in our country and also all over the world. Previously, animals such as cats, dogs, birds have been owned more frequently, but today pet range increased remarkably and the animals like hamsters, mice, rats, snakes, lizards, alligators have started to be preferred. Pet animals provide people feel better as psychological and physiological. It is mentioned that pet owners have lower blood pressure and cholesterol levels with a less level of drug usage and less incidence of heart disease than non-owners. However caring animals at home increases the risk of people being confronted with zoonotic diseases. It is concerned that a high number of bacterial, viral, parasitic and fungal infections can be transmitted from animals to humans. These infections often transmitted through by the way of bite, scratch, respiratory or digestive sistem. In humans, pasteurellosis, bartonellosis and various aerobic or anaerobic bacterial infections developed by biting or scratching are more common. Gastrointestinal tract infections (campylobacteriosis, salmonellosis), skin diseases (dermatophytosis, scabies), respiratory diseases (psittacosis) and multisystem diseases (toxoplasmosis, leishmaniasis) are less common. Young children, pregnant women and immunocompromised people have higher risk of these infections. For the prevention of these infections, pet owners have to

<sup>1</sup> Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, KAYSERİ

<sup>2</sup> Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, KAYSERİ

<sup>3</sup> Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Gökçen DİNÇ

Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, KAYSERİ

Tel : +90 352 207 66 66-13600

E-posta / E-mail : gokcendinc@erciyes.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 16.10.2014

Kabul Tarihi / Accepted : 21.02.2015

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.81557

Dinç G, Doğanay M, İzgür M. Pet hayvanlardan insanlara bulaşan önemli bakteriyel enfeksiyonlar. Türk Hij Den Biyol Derg, 2015; 72(2): 163-74.

sahiplerinin hijyen kurallarına dikkat etmesi ve evde bakılacak hayvanların genel sağlık durumlarının kontrol edilmesi, gerekiyorsa aşılmalılarının sağlanması son derece önemlidir. Pet hayvanlar ve sahipleri için oldukça önemli olan fakat, çoğunlukla ihmal edilen zoonotik enfeksiyonlar konusunda farkındalık yaratmak amacıyla hazırlanan bu derlemede kedi, köpek, kuş, balık gibi sıklıkla evlerde bakılan pet hayvanların yanı sıra tavşan, rodent, reptil, maymun gibi daha nadir olarak tercih edilen hayvanlardan da insanlara bulaşabilen bakteriyel enfeksiyonlar özetlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Bakteriyel zoonoz, insan, pet hayvan

pay attention to hygiene rules and general health status of the animals which will be cared at home, should be checked. If necessary, ensuring vaccination is extremely important. In this study, it was aimed to review zoonotic diseases most neglected but can be very important for pets and their owners. Also, bacterial infections that can be transmitted from rarely preferred animals like rabbits, rodents, reptiles, monkeys as well as cats, dogs, birds, fishes are summarized.

**Key Words:** Bacterial zoonoses, human, pet animal

## GİRİŞ

Modern dünyada evlerde hayvan besleme geleneği yaygınlaşmaktadır. Köpek, kedi ve kuşlar gibi alışık olduğumuz bilinen hayvanların yanı sıra kaplumbağa, kurbağa, yılan, timsah gibi diğer egzotik hayvanların evlerde bakımı da gittikçe artmaktadır. Evde beslenen hayvanlar genel tanımı ile “pet hayvanlar” olarak isimlendirilmektedir. Bu hayvanların ev içinde bakımı sırasında hayvanların solunum yolu sekresyonları, idrar ve dışkılarıyla temas veya bu sekret ve ekskretlerle gıdaların kontamine olması, hayvanların deri ve mukozalarında bulunan enfekte lezyonlarla temas, kazara hayvan ısırıklarına maruz kalma gibi olaylar ile pet hayvanlarından insanlara bazı enfeksiyonlar bulaşmaktadır (1 - 3).

Evcil hayvanlarla insanların ilişkisi çok eski tarihlere dayanmaktadır. Köpekler ilk olarak 15000 yıl önce Çin’de yaşayan kurtlardan evcilleştirilirken, ilk evcilleştirilen kedi ise Kıbrıs orjinlidir ve yaklaşık 9500 yıl önce evcilleştirilmiştir. Amerika’da yaklaşık 75 milyon köpek ve 88 milyon kedi ev hayvanı olarak bakılmaktadır. İngiltere’de 67 milyon evcil pet hayvanı olduğu bildirilirken, Kanada’da evde hayvan besleyenlerin oranının %56 olduğu belirtilmektedir (4, 5). Her ne kadar evde hayvan beslemenin

bireylerin mental ve fiziksel sağlığına katkısı olduğu bilinse de potansiyel sağlık risklerinin bilinmesi de oldukça önemlidir. Çünkü, her geçen gün artan evde hayvan besleme alışkanlığı insanları zoonotik enfeksiyonlar açısından risk altında bırakmaktadır. Hayvan sahipleri ile pet hayvanları arasındaki yakın ilişki nedeniyle insanlar en az 70 kadar enfeksiyöz etkenle karşı karşıya kalabilmektedir (3, 5). Birçok farklı yolla insanlara bulaşabilen bu etkenler için en sık bulaş yolları yalama, ısırık, sıyrık ve aynı yatağı paylaşmadır. Bu bulaş yolları ile en sık pastorelloz, bartonelloz gibi enfeksiyonlar ortaya çıkar. Solunum, sindirim veya direkt temasla bulaşan enfeksiyonlar arasında salmonelloz, kampilobakteriyoz, yersiniyoz, psittakoz, kutanöz larva migrans, dermatofitoz, toksoplazmoz, leişmanyoz gibi bakteriyel, fungal ve paraziter enfeksiyonlar yer alır. Küçük çocuklar özellikle helmintiyaz, toksokariyaz, gebeler toksoplazmoz yönünden risk altındayken kanser, diyabet, AIDS hastaları gibi immun sistemi baskılanmış bireyler ise kriptosporidiyoz, salmonelloz ve sistemik pastorelloz yönünden risk altındadırlar (1, 2, 5-8). Bu tip zoonotik hastalıklardan korunmada, genel hijyen kurallarına dikkat edilmesinin yanı



sıra bu hayvanlardan insanlara bulaşabilecek enfeksiyonlar konusunda hayvan sahiplerinin, “pet shop” işletmecilerinin, halk sağlığı çalışanlarının bilinçlendirilmesi ve tıp hekimleri ile veteriner hekimlerin birliktelik içerisinde çalışmaları oldukça önemlidir (2, 3, 6, 7, 9).

Bu makalede, modern kent yaşamının insanlara getirdiği pet hayvanlarla birlikte yaşama alışkanlığının neden olduğu bakteriyel enfeksiyon risklerinin gözden geçirilerek çoğunlukla göz ardı edilen bu bakteriyel zoonoz hastalıklar konusunda farkındalık oluşturulması ve kısaca korunma yollarının özetlenmesi amaçlanmıştır.

#### KÖPEKLERDEN BULAŞAN BAKTERİYEL ENFEKSİYONLAR Isırık Yoluyla Bulaşan Enfeksiyonlar:

İnsanlarda ısırık yaralarının yaklaşık %60'ı köpek ısırığı şeklindedir. Köpek ısırıklarının çoğu kişinin ya kendi köpeği tarafından ya da tanıdığı bir diğer köpek tarafından, özellikle kavga eden iki köpeği ayırırken

meydana gelmektedir. Köpeğin cinsi de ısırılma riski ile ilişkilidir. En saldırgan olarak bildirilen Pit bull teriyerlerini, Rotweiler ve Alman Çoban köpekleri takip eder. Ayrıca iri köpek ırkları diğerlerine göre daha ciddi yaralanmalara yol açarlar. Isırıkların çoğu küçük çocuklarda kontrolsüz köpeklerle oynamak isterken gerçekleşir. Bunların %20'sine kısırlaştırılmamış köpekler neden olur (4). Risk grubunu çoğunlukla 5-9 yaşlarındaki erkek çocuklar oluştururlar ve genellikle yaralanmalar yüz, boyun veya baş bölgesinden olur (Resim 1). Yetişkinlerde ise ısırılmalar el (%50'si), yüz ve boyun (%15'i), ayak veya bacaklarda (%20'si) ve üst ekstremitelerde (%15'i) görülür. Isırılma nedeniyle kemik doku, eklemler, sinir ve kan damarlarının da hasar görmesi olasıdır (4, 10).

Isırık yaralarının insidansı yaz aylarında ve haftasonları pik yapmaktadır. Isırık vakalarının yaş ortalaması 28 olup %60'dan fazlasının erkek olduğu bildirilmektedir. Isırık yaralarının çoğunluğu delinme



**Resim 1.** Köpek tarafından yaralanmış bir kız çocuğu (Prof.Dr.Atilla Çoruh'un arşivinden, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi AD., Erciyes Üni.)

(%60), laserasyonlar (%10) ya da her ikisinin (%30) birlikte bulunduğu şekillerde görülür. Yaraların yaklaşık %60'ında pürülan eksuda, %30'unda diğer enfeksiyon bulguları ve %10'unda apse oluşumu gözlenir (10). Bu ısırık lezyonlarında, köpeğin orafarengial florasında yer alan mikroorganizmalar yaraya inokule olur ve yara enfeksiyonu da ortaya çıkmaktadır. Isırık enfeksiyonlarında çoğunlukla bireyin derisinde ve hayvanın ağzında bulunan aerob ve anaerob mikroorganizmalar miks olarak izole edilir. Isırık yaralarından yapılan kültür sonuçlarına göre aerobik izolatlar genellikle; *Pasteurella* spp. (%50), *Streptococcus* spp. (%46), *Staphylococcus* spp. (%46; yarısı *S. aureus*'dur) ve *Neisseria* spp. (%16) suşları olarak bilinmektedir. Metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarının insanlardan hayvanlara ve hayvanlardan insanlara geçişi bildirilmiştir. MRSA taşıyıcılığı ve enfeksiyonu hem kedilerde hem de köpeklerde yaygın olup, bu izolatlar insan izolatlarından ayırt edilemezler (4, 10 - 12). Evcil hayvanlarda MRSA kolonizasyonu sıklıkla hayvan sahibinden direkt kazanım yoluyla olmaktadır. *S. aureus* insanlarda ve atlarda baskın tür olarak izole edilirken, *Staphylococcus intermedius* kedi ve köpeklerde daha baskın olarak belirlenen türdür (4). Ayrıca ısırık yaralarından çoğul ilaç dirençli *Escherichia coli* ve *Enterococcus* spp. izolasyonu da söz konusudur (10, 13). Yine ısırık yaralarından izole edilen *Capnosytophaga canimorsus* suşları özellikle kronik alkol bağımlılarında, immunsupresiflerde, dalağı alınmış ve karaciğer rahatsızlığı olan bireylerde ölümcül sepsise yol açabilir. Yapılan bir çalışmada *C. canimorsus* sepsisli 39 olgunun %56'sının köpek ısırığı, %10'unun da köpek tarafından yalanma nedeni olduğu, mortalitenin ise %31 oranında olduğu bildirilmiştir (14, 15). Anaerobik olarak ise çoğunlukla *Fusabacterium* spp. (%32), *Bacteroides* spp. (%30; özellikle *B. tectum*), *Porphyromonas* spp. (%28), *Prevotella* spp. (%28; özellikle *P. heparinolytica*) ve *Peptostreptococcus* spp. (%16) izole edilmektedir. Bu etkenlerin yanı

sıra *Mycoplasma* spp. (*M. canis*, *M. spuman*) ve diğer atipik izolatlar da ısırık yaralarından izole edilebilmektedir. Özellikle *C. canimorsus*, *Pasteurella multocida*, *Staphylococcus* spp. ve *Streptococcus* spp. ile enfekte derin yaralanmalarda sepsis ciddi bir komplikasyon olarak şekillenir. Ayrıca lösemi veya lupus hastaları ile kronik olarak steroid alan hastalarda *Fusabacterium*, *Neisseria* ve *Prevotella* türleri de sepsise yol açabilir (4, 10).

Köpek ısırıklarında hemen yapılması gereken yaranın sabunlu suyla yıkanmasıdır. Yaralanan kişinin tetanoz yönünden aşılama durumu göz önünde bulundurularak tetanoz toksoid aşısı ve/veya tetanoz immunglobulini uygulanması düşünülmelidir. Eğer hayvanın kuduz aşısının yapıp yapılmadığı bilinmiyorsa hekim yönlendirmesi ile hastaya kuduz aşısı uygulanmalıdır. Hastaneye yatırılmak durumunda kalınan hastaların ortalama yatış süresi 3 gün kadardır ve tedavi süresi yaranın ciddiyetine göre değişmektedir. Bu hastaların %30'unda insizyon ve drenaj işlemleri, %25'inde ise yara debridmanı yapılması gerekebilmektedir. Bununla birlikte özellikle ciddi baş, boyun yaralanmalarında mutlaka plastik cerrahi ve nöroşirurji konsültasyonu yapılmalıdır. Eğer enfeksiyon şüphesi varsa yaradan svapla örnek alınarak Gram boyama, aerob ve anaerob kültür işlemleri yapılmalıdır. Klinik pratikte serum fizyolojik ile irrigasyon ve gerekli hallerde nekrotize dokunun debridmanı ve varsa yara içerisinden yabancı cismin uzaklaştırılması önemlidir. Geniş ısırıklarda 8 saatten daha sonra sağlık merkezlerine başvuran hastalarda, yara kirli yara olarak kabul edilip 3-5 gün antibiyotik tedavisi verilmelidir. Eğer ısırığa bağlı deri ve yumuşak doku enfeksiyonu bulguları gelişmiş ise 7-10 gün antibiyotik tedavisi, septik artrit veya osteomyelit gelişmiş ise 4-6 haftalık antibiyotik tedavisi verilmelidir. Ayrıca köpek ısırıklarına bağlı endokardit, menenjit ve protez eklem enfeksiyonları da görülebilir. Bu tür klinik tablolarla *P. multocida*, *Listeria monocytogenes* ve *S. aureus* enfeksiyonları başta düşünülmelidir.

İzolata ve enfeksiyonun şiddetine göre tedavide doksisisiklin, klindamisin, trimetoprim sülfometaksazol, seftriakson, sefuroksim, sefpodoksim, ampisilin-sulbactam, piperasilin-tazobaktam, doripenem, ertapenem gibi antibiyotikler kullanılabilir (4, 10, 12, 15, 16).

### KÖPEK İDRARINA TEMAS İLE BULAŞAN BAKTERİYEL ENFEKSİYONLAR

#### Leptospiroz:

Çok sayıda memeli hayvanın renal tubüllerinde bulunabilen Leptospiralar içerisinde özellikle *Leptospira interrogans* serotip Canicola, *L. interrogans* serotip Bataviae, *L. interrogans* serotip Icterohemorrhagiae türlerine kanidelerde rastlanır. Leptospiralar, asemptomatik olarak uzun süre köpekler tarafından taşınabilir ve ayrıca köpeklerde de hastalık yapabilirler. Hastalık köpeklerde ateş, hematüri, sarılık, karaciğer ve böbrek yetmezliğine yol açar. İnsanlar ise enfekte köpek idrarına, enfekte dokulara veya indirekt olarak enfekte toprak ya da suya temasla hastalığa yakalanabilirler. İnsanlarda enfeksiyon asemptomatik olabileceği gibi ateş, miyalji veya Weil hastalığı olarak bilinen bifazik semptomlarla ortaya çıkar. Erken dönemde leptospiralar kan, idrar ve spinal sıvıdan izole edilebilir. Daha sonra etkene karşı antikorlar oluşur. Hastalığın sağaltımında penisilin G ve doksisisiklin önerilmektedir. Hastalığın ilk 4 gününde antibiyotik başlanmasının hastalığın süresini kısalttığı ve daha hafif geçtiği belirtilmektedir (10, 17, 18).

#### Bruselloz:

Köpeklerde görülen bruselloz etkeni *Brucella canis*'dir. Özellikle çiftliklerde yaşayan köpeklerde brusella enfeksiyonu gözlenebilir. *B. canis* köpeklerde plasental ve fetal dokularda, plasental ve vajinal sıvılarda, sütte ve semende bulunabilir. Köpekler arasında bulaş transplasental yol, emzirme, kan transfüzyonu ve çiftleşme ile olur. Ayrıca köpekler etkeni geçici olarak taşıyabilir ve idrarla

etrafa yayabilirler. Enfekte köpeklerde klinik olarak abort, lenfadenopati, diskospondilit, epididimit, orşit, meningoensefalit ve nörolojik bozukluklar ortaya çıkabilir. *B. canis* köpeklerden insanlara nadiren bulaşmaktadır ve diğer *Brucella* türlerine göre virulansı düşüktür. İnsanlarda hastalık, etkene maruz kalımdan 2-4 hafta sonra başlar. Enfeksiyon asemptomatik olabileceği gibi ateş, baş ağrısı, letarji, miyalji ve genel halsizlik hali gözlenebilir. Etken özellikle bağışıklığı baskılanmış bireylerde ciddi sistemik enfeksiyona da yol açabilir. Isırık yoluyla *B. canis* nedenli yumuşak doku enfeksiyonu görülme oranı ise oldukça düşüktür (10, 19). Ülkemizde *B. canis* enfeksiyonu seyrek görülmektedir ve genellikle olgu sunumları olarak ya da serolojik taramalar sonucunda bildirilmektedir (20).

### KEDİLERDEN BULAŞAN BAKTERİYEL ENFEKSİYONLAR

#### Isırık Yoluyla Bulaşan Bakteriyel Enfeksiyonlar:

Kedi ısırıkları çoğunlukla kişinin kediye tutma çabası veya kazara kedinin canını acıtma gibi eylemler sonucunda oluşur. Kedi ısırıklarının yaklaşık %85'inde delinme, yaklaşık %5'in altında laserasyon ve %10'unda da her ikisi bir arada görülebilir. Yaralanmalar sıklıkla üst ekstremiteler ve yüzde görülmektedir. Isırıkların birçoğu yüzeysel ve hafiftir. Bu nedenle tedaviye gerek duyulmaz. Ancak, kedilerin dişleri ince ve keskin olduğu için köpeklere göre daha derin bir yırtılma yarasına neden olabilir ve bu da yumuşak doku enfeksiyonu veya derin apse oluşumu riskini artırır. Ayrıca, köpek ısırıklarına nazaran kedi ısırıklarında enfeksiyon gelişimi daha hızlı olur. Diğer bölgelere göre ellerde ısırık yaralarının %30-40'ı enfekte olmaktadır. Isırık sonrası en sık deride selülit (%42) görülmektedir. Bu yaralar akıntılı yaralara (%39) ve lenfanjite (%28) dönüşebilir veya apseleşebilirler (%19). Kedilerin dişleri küçük fakat keskindir, dolayısıyla kemik ve tendonları da etkileyerek osteomyelit, tendonit ve septik artrit yol açabilirler (4, 10, 21).

Isırık yaralarından aerobik olarak çoğunlukla *Pasteurella* türleri, özellikle *P. multocida* ve *P. septica* izole edildiği bildirilmektedir (4, 11, 12, 21, 22). *P. multocida* özellikle kedilerde üst solunum yolu florasının bir üyesi olarak bulunabilmekte ve insanlarda ısırık ya da yalama ile başlayan enfeksiyonların çoğundan sorumlu olmaktadır. *Pasteurella* türleri insanlarda selülit, nekrotizan fasiit, septik artrit, osteomyelit ve nadiren de sepsis, septik şok ve menenjitte sebep olabilirler. Sepsis gibi ciddi durumlar daha ziyade yeni doğanlarda, hamilelerde, kronik steroid kullananlarda, organ nakli olanlarda görülmektedir (4, 23). Kedi ısırıklarından ayrıca *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Neisseria* spp., *Moraxella* spp., *Corynebacterium* spp. ve nadiren de *C. canimorsus* izolasyonları söz konusudur. Anaerob etkenlere ise çoğunlukla daha şiddetli enfeksiyonlarda ve apselerde rastlanır. Çoğunlukla *Bacteroides tectum*, *Fusobacterium* spp., *Porphyromonas* spp. ve *Prevotella* spp. izolasyonu söz konusudur. Ayrıca yarada ciddi ülserasyon ve papüler lezyon varlığında *Erysipelothrix rhusiopathiae* izolasyonu da bildirilmiştir (4, 10, 13, 24). Tedavide *C. canimorsus* ve *P. multocida* suşları çoğunlukla yumuşak doku enfeksiyonlarında kullanılan dikloksasin, sefalekssin, eritromisin ve klindamisine dirençlidirler. Tedavide beta-laktam antibiyotikler (penisilin, ampicilin vb.), ikinci veya üçüncü jenerasyon sefalosporinler (sefuroksim, sefpodoksim vb.), doksisisiklin veya florokinolonlar önerilmektedir (4).

#### **Bartonelloz (Kedi Tırmığı Hastalığı):**

Gram negatif, aerobik hücre içi bir bakteri olan *Bartonella henselae*, özellikle pire ile enfekte, serbest dolaşan ve birçok kedinin bir arada barındığı ortamlarda kedilerde klinik olarak bakteriyemiye yol açan bir etkidir. Kediler arasında pire veya pire dışıklarına maruz kalım enfeksiyonun yayılmasını sağlar. *Ctenocephalides felis* bulaşta primer vektördür. Pireler bakteriyemili kedilerden kan

emerken *Bartonella*'ları alır ve dışıkları vasıtasıyla da dışarı atarlar. Enfekte pire dışıklarının yaralara, patilere ve ağza bulaşı ve bunların yutulması kediler arası bulaş yolu açar. İnsanlarda ise enfeksiyon, *Bartonella* ile kontamine pire dışıklarının kirli patilerle oluşturulan çizik yaralarına bulaşması ile gelişir ki bu enfeksiyona "Kedi Tırmığı Hastalığı" denir (19, 25). Kediyle birlikte uyurken veya yalama neticesinde hastalığın olduğuna dair bildiri azdır. Örneğin Tayvan'da 9 yaşında kedisiyle uyuyan bir kız çocuğunda immunofloresan analizi, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), histolojik inceleme ve tomografi vasıtasıyla sistemik kedi tırmığı hastalığı tanısı konduğu bildirilmiştir (26). Amerika'da hastalık ve risk faktörleri konusunda yapılan bir çalışmada hastalığın çoğunlukla kedi tarafından tırmıklanan veya ısırılan, yüzü yalanan, kedisiyle birlikte uyuyan veya kedisini tarayan bireylerde ortaya çıktığı belirtilmiştir (27). Türkiye'de ise Aydın'da yapılan çalışmada, *Bartonella henselae* seropozitifliğinin ortalama %11,5; evde kedi/köpek besleyenlerde ise ortalama %26,5 olduğu bildirilmiştir (28). Çelebi ve ark. Ankara'da 256 kedide yaptıkları taramada *B. henselae* seropozitifliğini %18,6 olarak belirlerken (29), Güzel ve ark. Türkiye'nin farklı illerindeki toplam 298 kedide *B. henselae* seroprevalansını %27,9 olarak saptayarak etkenin zoonotik önemini vurgulamışlardır (30). Hastalık insanlarda subklinik olabileceği gibi inokulasyon yerinde papül veya püstül, ağrılı lenfadenopati, ateş şeklinde gözlenebilir. Ayrıca nadiren Parinaud's oküloglandular sendrom, ensefalit, menenjit, endokardit, glomerulonefrit, üveit, retinit, osteomyelit ve pnömoni gelişebilir. Tedavide azitromisin, doksisisiklin ve rifampin kullanılabilir (19).

#### **KEDİ VE KÖPEKLERDEN BULAŞAN BAKTERİYEL ENTERİK ENFEKSİYONLAR**

Kedi ve köpekler pişmemiş et ve balıklardan, özellikle sakatattan, kontamine sulardan salmonelloza yakalanabilirler (10). Bulaşma direkt

temas veya fekal-oral yolla olmaktadır. Hayvanlar asemptomatik Salmonella taşıyıcılarıdır ve stres ya da başka bir enfeksiyon varlığında klinik olarak hastalık ortaya çıkar. Enfeksiyon kedi ve köpeklerde çoğunlukla akut diyare veya diğer gastrointestinal problemlere yol açarken, septisemi ve sistemik hastalık nadiren görülür. İnsanlarda ise enfeksiyon asemptomatik seyredebileceği gibi diyare, ateş, bakteriyemi ve hatta sepsis görülebilir (19).

Kedi ve köpeklerde *Campylobacter jejuni* taşıyıcılığı da olabilir. Fekal-oral bulaş, kontamine gıda, süt ve su tüketimi ile meydana gelir. Bu hayvanlarda diyare ve gastrointestinal rahatsızlıklar görülmekle birlikte hepatobiliyer hastalık, bakteriyemi ve nadiren abortlar da görülebilir. İnsanlarda ise genellikle gastroenterit, kusma, diyare, ateş, karın ağrısı ortaya çıkar. Septik artirit, septisemi, hemolitik üremik sendrom, miyokardit, menenjit, kolit gibi komplikasyonlar ise nadiren gözlenir (19).

Ayrıca, *Helicobacter bizzeronii*, *Helicobacter felis* kedilerin midesinde bulunabilmektedir. *H. pylori*'nin ise insanlardan kedilere geçmiş olabileceği düşünülmektedir (10).

#### KEDİ VE KÖPEKLERDEN İNHALASYONLA BULAŞAN BAKTERİYEL ENFEKSİYONLAR

##### Bordetelloz:

Gram negatif, zorunlu aerobik bir kokobasil olan *Bordetella bronchiseptica*, köpeklerde enfeksiyöz trakeobronşite (köpek barınak öksürüğü) yol açar. Etken kedilerde de köpeklerde olduğu gibi enfeksiyona yol açabilir ancak, enfeksiyon kedilerde daha az görülür. Bulaşma damlacık enfeksiyonu veya direkt temasta olur. Transplant yapılanlarda, immunsupresif ve tedavi alanlarda, çocuklarda ve HIV pozitif bireylerde respiratuvar hastalık gözlenir. Ayrıca bu tip hastaların enfeksiyon riskine karşı canlı kanin intranazal aşısıyla veya yeni aşılanmış hayvanla temastan kaçınmaları gereklidir. (10, 19).

##### Diğer Hastalıklar:

Vebaya neden olan *Yersinia pestis*'in, kedilerde pire ile bulaşması söz konusudur. Özellikle yaz aylarında sıçan pirelerinin kedileri enfekte etmesiyle hastalık ortaya çıkar. Kediler ve rodentler etken için rezervuardırlar ve aynı zamanda kediler vebaya karşı oldukça duyarlıdır. Isırık veya inhalasyonla insanlara enfeksiyonu bulaştırabilirler. Köpekler de özellikle enfekte pirelerin kedi ve insanlara geçmesine olanak sağlayarak enfeksiyonun yayılmasında rol oynarlar. Köpeklerde klinik bulgular daha az gözlenirken, hastalık insanlarda ve kedilerde bubonik veba (büyümüş, inflamasyonlu ve apselli lenf nodları ile karakterize), septisemik veba (ateş, şok ve dissemine intravasküler koagülasyon ile karakterize) ve pnömonik veba şeklinde ortaya çıkar (10, 19, 31).

#### KUŞLARDAN BULAŞAN BAKTERİYEL ENFEKSİYONLAR

##### İnhalasyonla Bulaşan Bakteriyel Enfeksiyonlar Psittakoz:

Gram negatif, kokoid, zorunlu hücre içi bir bakteri olan *Chlamydomphila psittaci* kanatlılarda psittakozun etkenidir. Enfeksiyon papağan, muhabbet kuşu, güvercin, hindi, ördek ve nadiren tavuklarda görülür. İnsanlarda enfeksiyon hasta kuşlara temas, dışkı tozları ve enfekte salgıların solunması veya enfekte dışkı yada tüylerin yutulmasıyla olur. Çoğunlukla evde kafes altlığının değiştirilmesi sırasında bireyler inhalasyonla etkeni alırlar. Kuşları öperken ya da kuş tarafından ısırılmayla da bulaşma olduğu bildirilmiştir (19, 32). Hastalık kuşlarda nefes almada zorluk, konjunktivit, rinit, pnömoni, zayıflama, ishal ve poliüri gibi semptomlar ile seyrederken, insanlarda hafif grip benzeri bulgular veya ağır atipik pnömoni ile ortaya çıkar. Hasta bireylerde halsizlik, iştahsızlık, ateş, üşüme nöbetleri, boğaz ağrısı, kas ağrısı ve öksürük gözlenir. Enfeksiyonda nadiren perikardit, miyokardit veya tromboembolik komplikasyonlar da şekillenebilir. Kuşlar için tedavide geniş spektrumlu antibiyotikler kullanılabilirken, insanlar için

özellikle tetrasiklinler ve makrolidler uygundur (19, 33- 35).

#### Mikobakteriyoz:

Kanatlı mikobakteriyozuna neden olan *Mycobacterium avium* subsp. *avium* güvercinler, kanaryalar, papağanlar ve birçok evcil ve yabani kuş arasında yaygındır. Hastalığa çoğunlukla *Mycobacterium avium* serotip 1, 2, 3 ve 6 (genotip IS901+ ve IS1245+) ve *M. genavense* neden olur. *M. intracellulare*, *M. scrofulaceum*, *M. fortuitum*, *M. tuberculosis* ve *M. bovis* gibi diğer türler de kanatlı tüberkülozuna neden olurlar, fakat insidansları düşüktür. Ülkemizde yapılan bir çalışmada 214 kafes kuşu *M. avium* subsp. *avium*, *M. genavense* ve *M. fortuitum* yönünden değerlendirilerek bunların 5'inde mikobakteri tespit edilmiş ve 4'ünün *M. avium* subsp. *avium* olduğu saptanmıştır (36).

Kanatlılarda tüberküloz geliştiğinde etken çoğunlukla dışkı ve solunum yolu sekresyonlarıyla etrafa yayılarak halk sağlığını tehdit eder. İnsanlara enfeksiyon çoğunlukla kontamine su ve toprak gibi çevresel kaynaklardan bulaşır. *Mycobacterium avium* kompleksi; *M. avium* subsp. *avium*, *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, *M. avium* subsp. *silvaticum* ve *M. intracellulare* etkenlerinden oluşmaktadır ve bu etkenler immunsuprese insanları olduğu gibi domuz, sığır, koyun, keçi, at, kedi, köpek gibi diğer hayvanları da enfekte edebilirler. *M. avium* subsp. *avium* (MAA), evcil kuşlarda tüberküloza yol açan en önemli etken olarak değerlendirilmektedir. İnsanlarda ise *M. avium* lokalize primer lenfadenit, pulmoner hastalığın gözleendiği, antibiyotik tedavisine dirençli progresif bir enfeksiyona neden olur (19, 37). İnsanlarda ateş, halsizlik, kilo kaybı, hepatomegali, diyare, nötropeni, anemi ile birlikte solunum yolu enfeksiyonuna yol açar. *M. genavense* ise özellikle immunsupresif tedavi alanlarda veya HIV ile enfekte olan insanlarda enfeksiyona yol açar. Ayrıca papağanlar *M. tuberculosis* ile enfekte olabilir

ve insanlara bulaştırabilirler (19). Genel olarak *M. tuberculosis* ve *M. bovis* nedenli mikobakteri enfeksiyonlarında insanlarda izoniazid, ethambutol, rifampisin ve pirazinamid ile tedavi önerilir (37).

#### ENTERİK HASTALIKLAR

##### Salmonelloz:

Diğer kanatlılar gibi ötücü kuşlar ve papağangiller de bir çok Salmonella türü için asemptomatik taşıyıcı olarak veya klinik bulgular (diyare, septisemi, osteomyelit, depresyon, dehidrasyon, anoreksi vb.) göstererek bir enfeksiyon kaynağı olabilir. Zoonotik ajanlığı iyi bilinen *S. Typhimurium*'un kuşlardan insanlara bulaşı çeşitli çalışmalarla bildirilmiş, bilhassa kuşların altlıklarının temizlenmesi sırasında hijyen kurallarına dikkat edilmesi gerektiği belirtilmiştir (38, 39).

##### Kampilobakteriyoz:

Campylobacter türleri, özellikle *C. jejuni* insanlarda kusma, diyare, baş ağrısı, depresyon, kilo kaybı gibi semptomlara yol açarak birçok ülkede gıda kaynaklı enfeksiyonların önemli bir nedenidir. Pet kuşların bu hastalığın epidemiyolojisindeki rolü hakkındaki bilgi az da olsa etken kanaryalar, papağangiller ve serçegiller gibi hobi kuşları olarak da nitelendirilen birçok kuş türü tarafından yayılmaktadır. Kuşa ya da dışkısına/atlığa dokunurken hijyenik önlemlerin alınması önerilmektedir (40, 41).

##### Diğer hastalıklar:

*Pasteurella* spp., *Klebsiella* spp., *Yersinia* spp., *Pseudomonas* spp., *E. coli* gibi bir çok zoonotik etkenin pet kuşlardan izole edildiği bildirilmektedir. Hijyen kurallarına uyulmaması, yeni alınan kuşların karantinada bekletilmemesi, evlerde kontamine su ve gıdalarla temas bu bakteriyel zoonotik enfeksiyonlar için bulaş kaynağı olarak belirtilmektedir (38, 39, 41).

### FARE, SIÇAN, TAVŞAN, GERBİL, HAMSTER GİBİ HAYVANLARDAN BULAŞAN ENFEKSİYONLAR

Kimileri için ürkütücü görünseler de son yıllarda insanların ev yaşamlarına rodentler ve tavşanlar da pet hayvan olarak eşlik etmeye başlamıştır ve popüleriteleri gittikçe artmaktadır. Evcil pet tavşan ve rodentlerden insanlara bulaşan zoonozların sayısı azdır. İnsanlarda bu hayvanlardan kaynaklanan sağlık problemleri daha ziyade alerjiler ve ısırıklarla ilişkilidir. Tavşanlar başta olmak üzere birçok ağız florasının bir üyesi olarak *P. multocida*'ya sahiptirler ve etken insanlarda kutanöz enfeksiyona yol açabilir. Fare ve sıçan ısırıkları ile ise *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *P. multocida*, *Leptospira* spp. ve *Fusabacterium* spp. bulaşı mevcuttur. Hamster ısırması ile *Acinetobacter* spp. ve *Leptospira* spp. bulaşı da söz konusudur. Ayrıca, küçük memeli pet hayvanlar olarak da tanımlanan bu hayvanlar *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Spirillum minus*, *L. monocytogenes*, *Burkholderia pseudomallei*, *Streptobacillus moniliformis*, *L. interrogans*, *Francisella tularensis*, *Y. pestis* gibi bakterileri taşımaktadırlar. Ancak rodentler ile ilişkili en yaygın enfeksiyon Rat Isırığı Ateşi olmakla birlikte Tyzzer's hastalığı da özellikle laboratuvar hayvanları açısından önemlidir (10, 42, 43).

#### Rat Isırığı Ateşi:

Bu enfeksiyona bireyin rat ısırığına maruz kalması sonucunda Amerika'da çoğunlukla *S. moniliformis*, Asya'da ise *S. minus* yol açmaktadır. Her iki mikroorganizma da ratların ve diğer rodentlerin orofarengeal floralarının üyesidirler. *S. moniliformis* erythema arthriticum epidemicum (Haverhill fever) hastalığının, *S. minus* ise ülkemizde de sporadik olarak görülebilen sodoku hastalığının etkenidirler. *S. minus* nedenli enfeksiyonda ateşle birlikte isilik benzeri, kırmızımsı veya morumsu plak benzeri lezyonlar gelişir. İyileşmiş olan ısırık yarası ateşle birlikte tekrar aktive olabilir. *S. moniliformis* enfeksiyonu rat ısırığı ile olabileceği gibi enfekte

süt ve su tüketimi ile de enfeksiyon gelişebilir. Hastada ateşle birlikte özellikle ekstremitelerde makülopapüler lezyonlar veya peteşiler gözlenir. Fokal apseler, endokardit ve büyük eklemlerde artrit oluşabilir. *S. moniliformis* ısırık enfeksiyonu olmaksızın çoğunlukla sistemik enfeksiyona yol açarken *S. minus* yara enfeksiyonuna neden olur, ancak tedavi edilmezse kötüleşerek sistemik enfeksiyon ortaya çıkar. Her iki enfeksiyon için de teşhiste özelleşmiş laboratuvarlara ihtiyaç vardır. Tedavide penisilin veya tetrasiklin uygulanır (10, 42, 44).

#### Tyzzer's Hastalığı:

Tyzzer's hastalığı, önceleri *Bacillus piliformis* olarak bilinen *Clostridium piliforme*'nin neden olduğu enterohepatik bir hastalıktır. Enfeksiyon özellikle laboratuvar hayvanlarında, birçok evcil hayvan türünde ve immun sistemi baskılanmış bireylerde görülebilmektedir. Hayvanlar bakteri sporlarının veya kontamine materyalin sindirilmesi sonucu enfekte olurlar. Klinik olarak hayvanlarda görülen en yaygın bulgular diyare, abdominal gerginlik, anoreksi ve kilo kaybıdır. *C. piliforme* salgınlarından özellikle genç hayvanlar etkilenirler ve çoğunlukla herhangi bir klinik semptom göstermeden ölürler. Hastalığın HIV pozitif bir hastada ve primatlarda görüldüğü de belirtilmiştir (43, 45, 46).

### DİĞER PET HAYVANLARDAN BULAŞAN BAKTERİYEL ENFEKSİYONLAR

#### Maymunlardan Bulaşan Bakteriyel Enfeksiyonlar:

Maymun ısırıkları diğer hayvan ısırıklarına göre daha ciddi sonuçlanır. Isırık yaralarında sıklıkla *Staphylococcus epidermidis*, *S. intermedius*, *Streptococcus sanguis*, *S. mitis*, *S. angiosus*, *S. agalactia*, *Neisseria sicca*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Enterococcus durans*, *E. faecalis*, *Clostridium* spp., *Fusabacterium* spp. ve *Bacteroides* spp. izole edilir (44).

### Reptiller, Amfibiler ve Balıklardan Bulaşan Bakteriyel Enfeksiyonlar:

Yabancı ülkelerde yaygın olmakla birlikte son yıllarda yılan, timsah, kertenkele ve kaplumbağa gibi hayvanlara da pet hayvan olarak evlerde bakılmaktadır. Reptiller, özellikle kaplumbağalar tarafından insanlara bulaştırılan en yaygın enfeksiyon salmonellozdur. Ayrıca yılan ve diğer reptillerin ağız florasında *Aeromonas hydrophila* olabileceği bildirilmiş, 3 vakada yılan ısırığı sonucunda *A. hydrophila* ile enfekte yumuşak doku nekrozu ve kutanöz apse oluşumu gözlenmiştir (47). Reptillerden *Edwardsiella tarda*, *Plesiomonas shigelloides*, *Yersinia enterocolitica* bulaşı da söz konusudur (42).

Balıklar ise *Salmonella* spp., *Aeromonas* spp., *Vibrio* spp., *P. aeruginosa*, *Mycobacterium marinum* ve çeşitli halofilik bakterileri taşıyabilirler. Balık ısırmaları nadir de olsa gözlenir. Bu ısırıklardan *Vibrio vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. carchariae*, *Halomonas venusta*, *Photobacterium damsela*, *A. hydrophila* ve *Erysipelothrix rhusiopathiae* izolasyonu söz konusudur. *M. marinum* özellikle balık yetiştiricilerinde granülatöz lezyonlara yol açarken *E. rhusiopathiae* balık satıcılarında erizipeloidlere neden olur. Lezyonlar çoğunlukla ellerde olmakla birlikte lokal lenfanjit veya lenfadenit gelişebilir. Tedavide penisilin kullanımı tavsiye edilir (10, 44).

### KAYNAKLAR

1. Geffray L. Infections associated with pets. Rev Med Interne, 1999; 20(10): 888-901.
2. Stull JW, Peregrine AS, Sargeant JM, Weese JS. Household knowledge, attitudes and practices related to pet contact and associated zoonoses in Ontario, Canada. BMC Public Health, 2012; (12): 553. doi: 10.1186/1471-2458-12-553.
3. Stull JW, Peregrine AS, Sargeant JM, Weese JS. Pethusbandry and infection control practices related to zoonotic disease risks in Ontario, Canada. BMC Public Health, 2013; (13): 520.
4. Oehler RL, Velez AP, Mizrahi M, Lamarche J, Gompf S. Bite-related and septic syndromes caused by cats and dogs. Lancet Infect Dis, 2009; 9(7): 439-47.
5. Halsby KD, Walsh AL, Campbell C, Hewitt K, Morgan D. Healthy animals, healthy people: zoonosis risk from animal contact in pet shops, a systematic review of the literature. PLOS One, 2014; 9(2): e89309. doi: 10.1371/journal.pone.0089309.
6. Rabinowitz PM, Gordon Z, Odofin L. Pet-related infections. Am Fam Physician, 2007; 76(9): 1314-22.
7. Hemsworth S, Pizer B. Pet ownership in immunocompromised children-a review of the literature and survey of existing guidelines. Eur J Oncol Nurs, 2006; 10(2): 117-27.
8. Stull JW, Brophy J, Sargeant JM, Peregrine AS, Lawson ML, Ramphal R et al. Knowledge, attitudes, and practices related to pet contact by immunocompromised children with cancer and immunocompetent children with diabetes. J Pediatr, 2014; 165(2): 348-355.
9. İzgür M, Doğanay M. Zoonozların önemi ve genel bakış. In: Doğanay M, Altıntaş N, eds. Zoonozlar; Hayvanlardan İnsanlara Bulaşan Enfeksiyonlar, 1. Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2009: 21-32.
10. Goldstein EJC. Infections from pets. In: Cohen J, Powderly WG, Opal SM, Eds. Infectious Diseases, Expert Consult, 3rd Edition. Philadelphia: Mosby/Elsevier, 2010: 727-33.



11. Aygen B, Doğanay M, Üstünbaş HB. *Pasteurella multocida* sellüliti. İnfeksiyon Derg, 1991; 5(2): 135-39.
12. Aygen B, Metan G. Hayvan ısırıkları ile bulaşan enfeksiyonlar. In: Doğanay M, Altıntaş N, eds. Zoonozlar; Hayvanlardan İnsanlara Bulaşan Enfeksiyonlar, 1. Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2009: 1155-63.
13. Talan DA, Citron MA, Abrahamian FM, Moran GJ, Goldstein EJ. Bacteriologic analysis of infected dog and cat bites. Emergency Medicine Animal Bite Infection Study Group. N Engl J Med, 1999; 340(2): 85-92.
14. Pers C, Gahrn-Hansen B, Frederiksen W. *Capnocytophaga canimorsus* septicemia in Denmark, 1982-1995: review of 39 cases. Clin Infect Dis, 1996; 23(1): 71-5.
15. Griego RD, Rosen T, Orengo IF, Wolf JE. Dog, cat, and human bites: a review. J Am Acad Dermatol, 1995; 33(6): 1019-29.
16. Goldstein EJ, Citron DM, Merriam CV, Warren YA, Tyrrell K, Fernandez H. Comparative in vitro activity of ertapenem and 11 other antimicrobial agents against aerobic and anaerobic pathogens isolated from skin and soft tissue animal and human bite wound infections. J Antimicrob Chemother, 2001; 48(5): 641-51.
17. Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. Lancet Infect Dis, 2003; 3(12): 757-71.
18. Vijayachari P, Sugunan AP, Shriram AN. Leptospirosis: an emerging global public health problem, J Biosci, 2008; 33(4): 557-69.
19. Mani I, Maguire JH. Small animal zoonoses and immunocompromised pet owners. Top Companion Anim Med, 2009; 24(4): 164-74.
20. Yüksekaya S, Aras Z, Uçan US. Investigation of *Brucella canis* seroprevalence in Brucellosis suspected cases. Mikrobiyol Bul, 2013; 47(1): 152-7.
21. Love DN, Malik R, Norris JM. Bacteriological warfare amongst cats: what have we learned about cat bite infections? Vet Microbiol, 2000; 74(3): 179-93.
22. Dendle C, Looke D. Review article: Animal bites: an update for management with a focus on infections. Emerg Med Australas, 2008; 20(6): 458-67.
23. Hey P, Gow P, Torresi J, Testro A. Cirrhosis, cellulitis and cats: a 'purrfect' combination for life-threatening spontaneous bacterial peritonitis from *Pasteurella multocida*. BMJ Case Rep, 2012. pii: bcr2012007397. doi: 10.1136/bcr-2012-007397.
24. Nocera NF, Desai KK, Granick MS. Cat bite cellulitis. Eplasty, 2014; 14:25.
25. Chomel BB, Boulouis HJ, Maruyama S, Breitschwerdt EB. *Bartonella* spp. in pets and effect on human health. Emerg Infect Dis, 2006; 12(3): 389-94.
26. Liao HM, Huang FY, Chi H, Wang NL, Chen BF. Systemic cat scratch disease. J Formos Med Assoc, 2006; 105(8): 674-9.
27. Zangwill KM, Hamilton DH, Perkins BA, Regnery RL, Plikaytis BD, Hadler JL, Cartter ML, Wenger JD. Cat scratch disease in Connecticut. Epidemiology, risk factors, and evaluation of a new diagnostic test. N Engl J Med, 1993; 329(1): 8-13.
28. Aydin N, Bülbül R, Telli M, Gültekin B. Seroprevalence of *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* in blood donors in Aydin province, Turkey. Mikrobiyol Bul, 2014; 48(3): 477-83.
29. Celebi B, Kilic S, Aydin N, Tarhan G, Carhan A, Babur C. Investigation of *Bartonella henselae* in cats in Ankara, Turkey. Zoonoses Public Health, 2009; 56(4): 169-75.
30. Guzel M, Celebi B, Yalcin E, Koenhems L, Mamak N, Pasa S, Aslan O. A serological investigation of *Bartonella henselae* infection in cats in Turkey. J Vet Med Sci, 2011; 73(11): 1513-6.
31. Gage KL, Dennis DT, Orloski KA, Etestad P, Brown TL, Reynolds PJ et al. Cases of cat-associated human plague in the Western US, 1977-1998. Clin Infect Dis, 2000; 30(6): 893-900.
32. Vanrompay D, Ducatella R, Haesebrouck F. *Chlamydia psittaci* infections: a review with emphasis on avian chlamydiosis. Vet Microbiol, 1995; 45 (2-3) : 93-119.
33. Arda M. Kafes Kuşu Hastalıkları. 1. Baskı. Ankara: Ayban Matbaacılık ve Yayıncılık. 2008: 129-37.
34. West A. A Brief Review of *Chlamydia psittaci* in Birds and Humans. J Exot Pet Med, 2011; 20 (1): 18-20.

35. Beeckman DS, Vanrompay DC. Zoonotic *Chlamydophila psittaci* infections from a clinical perspective. *Clin Microbiol Infect*, 2009; 15 (1) : 11-17.
36. Duygu Altınsoy N. Kafes kuşlarında Tüberküloza neden olan etkenlerin kültür ve moleküler yöntemlerle teşhisi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2012.
37. Dhama K, Mahendran M, Tiwari R, Dayal Singh S, Kumar D, Singh S, Sawant PM. Tuberculosis in Birds: Insights into the *Mycobacterium avium* Infections. *Vet Med Int*, 2011; 2011:712369. doi: 10.4061/2011/712369.
38. Evans EE: Zoonotic diseases of common pet birds: psittacine, passerine, and columbiform species. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*, 2011; 14: 457-76.
39. Harris JM: Zoonotic diseases of birds. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 1991; 21: 1289-98.
40. Wedderkopp A, Madsen AM, Jørgensen PH: Incidence of *Campylobacter* species in hobby birds. *Vet Rec*, 2003; 152: 179-80.
41. Jorn KS, Thompson KM, Larson JM, Blair JE. Polly can make you sick: pet bird-associated diseases. *Cleve Clin J Med*, 2009; 76(4): 235-43.
42. Chomel BB. Zoonoses of house pets other than dogs, cats and birds. *Pediatr Infect Dis J*, 1992; 11(6): 479-87.
43. Waner T, Cohen O, Anug AM, Rosner A. An epizootic of Tyzzer's disease in rabbits in Israel. *Isr J Vet Med*, 2005; 60: 63-6.
44. Krauss H, Weber A, Appel M, Enders B, Isenberg HD, Schiefer HG, Slenczka W, Graevenitz A, Zahner H. Eds. Zoonoses, Infectious diseases transmissible from animals to humans. Appendix A: Animal bite infections. 3rd ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 405-10.
45. Franklin CL, Motzel SL, Besch-Williford CL, Hook RR Jr, Riley LK. Tyzzer's infection: host specificity of *Clostridium piliforme* isolates. *Lab Anim Sci*, 1994; 44(6): 568-72.
46. Sasseville, VG, Simon, MA, Chalifoux LV, Lin KC, Mansfield KG. Naturally occurring Tyzzer's disease in cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*). *Comp Med*, 2007; 57: 125-7.
47. Jorge MT, Nishioka Sde A, de Oliveirá RB, Ribeiro LA, Silveira PV. *Aeromonas hydrophila* soft-tissue infection as a complication of snake bite: report of three cases. *Ann Trop Med Parasitol*, 1998; 92(2): 213-7.

## TELİF HAKKI DEVRİ / COPYRIGHT RELEASE



TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU / PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

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

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

Makale Türü/Article Type:

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

Makale Başlığı/Article Entitled : .....

Sayın Editör,

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

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

Dear Editor,

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

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

(...1) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

(...2) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

(...3) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

(...4) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

(...5) ..... İmza/Signature : .....

Yazışma Adresi/Corresponding Address : .....

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

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

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

TÜRKİYE HALK SAĞLIĞI KURUMU / PUBLIC HEALTH INSTITUTION OF TURKEY

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

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

Tel/Phone : +90 312 565 55 79

Faks/Fax : +90 312 565 54 55

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



