



T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
HALK SAĞLIĞI GENEL MÜDÜRLÜĞÜ

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

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

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 76 ■ Sayı/Number 4 ■ Yıl/Year 2019

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND  
EXPERIMENTAL BIOLOGY

Turk Hij Den Biyol Derg



# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

## TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Sahibi / Owner

**Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü adına**

On behalf of General Directorate of Public Health

**Fatih KARA, Genel Müdür (General Director)**

### EDİTÖR / EDITOR IN CHIEF

Hasan IRMAK

### EDİTÖR YARDIMCILARI / DEPUTY EDITORS

Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN

Demet CANSARAN-DUMAN

Hülya ŞİMŞEK

Pınar KAYNAR

### YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Mehmet Kürşat DERİCİ

Fatih BAKIR

Mestan EMEK

Fehminaz TEMEL

Selin NAR-ÖTGÜN

Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK

Şule ŞENSES-ERGÜL

Arsun ESMER

Sibel KARACA

Gülsen TOPAKTAŞ

### TEKNİK KURUL / TECHNICAL BOARD

Utku ERCÖMART

Zeynep KÖSEOĞLU

Selahattin TAŞOĞLU

Gülay GÜLTAY

## HALK SAĞLIĞI GENEL MÜDÜRLÜĞÜ

### GENERAL DIRECTORATE OF PUBLIC HEALTH

#### ANKARA-TÜRKİYE

Yılda dört kez yayımlanır / Published four times per year

Asitsiz kağıt kullanılmıştır / Acid free paper is used

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

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

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

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

#### Yayın Türü / Type of Publication :

Yerel Süreli Yayın / Periodical Publication

#### Basım Tarihi / Date of Publication :

2019

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

## ULUSLARARASI BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / INTERNATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Ali MIRAZIMI, İsveç

Anna PAPA, Yunanistan

Aziz SANCAR, ABD

Cristina DOMINGO, Almanya

Daniel MOTLHANKA, Botswana

Dwight D. BOWMAN, ABD

Isme HUMOLLI, Kosova

Isuf DEDUSHAJ, Kosova

Iva CHRISTOVA, Bulgaristan

Johan LINDH, İsveç

Kosta Y. MUMCUOĞLU, İsrail

Manfred WEIDMANN, İngiltere

Paul HEYMAN, Belçika

Pauline MWINZI, Kenya

Roberto Caneta VILLAFRANCE, Küba

Sıraç DİLBER, İsveç

Susana RODRIGUEZ-COUTO, İspanya

Takashi AKAMATSU, Japonya

Varalakshmi ELANGO, Hindistan

## ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

A. Gülçin SAĞDIÇOĞLU-ÇELEP, Ankara

Abdülkadir HALKMAN, Ankara

Ahmet ÇARHAN, Ankara

Ahmet KART, Ankara

Akçahan GEPDİREMEN, Bolu

Ali ALBAY, Ankara

Ali Kudret ADILOĞLU, Ankara

Ali Naci YILDIZ, Ankara

Alp ERGÖR, İzmir

Alper AKÇALI, Çanakkale

Aşkın YAŞAR, Ankara

Ateş KARA, Ankara

Aydan ÖZKÜTÜK, İzmir

Aykut ÖZKUL, Ankara

Ayşegül GÖZALAN, Ankara

Ayşegül TAYLAN ÖZKAN, Çorum

Banu ÇAKIR, Ankara

Bayram ŞAHİN, Ankara

Bekir ÇELEBİ, Ankara

Belgin ÜNAL, İzmir

Berrin ESEN, Ankara

Birce TABAN, Ankara

Bülent ALTEN, Ankara

Celal F. GÖKÇAY, Ankara

Cemal SAYDAM, Ankara

Çağatay GÜLER, Ankara

Delia Teresa SPONZA, İzmir

Demet CANSARAN DUMAN, Ankara

Dilek ASLAN, Ankara

Dilek YAĞCI ÇAĞLAYIK, İstanbul

Diler ASLAN, Denizli

Doğan YÜCEL, Ankara

Duygu ÖZEL DEMİRALP, Ankara

Ebubekir CEYLAN, Ankara

Emrah RUH, Kıbrıs

Ender YARSAN, Ankara

Erhan ESER, Manisa

Erkan YILMAZ, Ankara

Fatih BAKIR, Ankara

Fehminaz TEMEL, Ankara

Fügen DURLU ÖZKAYA, Ankara

Fügen YÖRÜK, Ankara

Gönül ŞAHİN, Ankara

Görkem MERGEN, Ankara

Gül ERGÖR, İzmir

Gül Ruhsar YILMAZ, Ankara

Gülberk UÇAR, Ankara

Gülnur TARHAN, Adıyaman

# TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

## ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

Hakan ABACIOĞLU, İzmir  
Haluk VAHABOĞLU, İstanbul  
Hasan IRMAK, Ankara  
Hasan TEZER, Ankara  
Hayrettin AKDENİZ, Bolu  
Hilal ÖZDAĞ, Ankara  
Hülya ŞİMŞEK, Ankara  
Hürrem BODUR, Ankara  
Işıl MARAL, İstanbul  
İ. Mehmet Ali ÖKTEM, İzmir  
İpek MUMCUOĞLU, Ankara  
İrfan EROL, Ankara  
İrfan ŞENCAN, Ankara  
İsmail CEYHAN, Ankara  
Kemal Osman MEMİKOĞLU, Ankara  
Koray ERGÜNAY, Ankara  
Levent AKIN, Ankara  
Mahinur AKKAYA, Ankara  
Mehmet Ali ONUR, Ankara  
Mehmet Kürşat DERİCİ, Çorum  
Mestan EMEK, Antalya  
Metin KORKMAZ, İzmir  
Mithat ŞAHİN, Kars  
Muhsin AKBABA, Adana  
Murat DİZBAY, Ankara  
Mustafa AKSOY, Ankara  
Mustafa ERTEK, Ankara  
Mustafa Necmi İLHAN, Ankara  
Mustafa Kasım KARAHOCAGİL, Kırşehir  
Mustafa Kemal BAŞARALI, Ankara  
Mustafa KAVUTÇU, Ankara  
Mükerrem KAYA, Erzurum  
Nazan YARDIM, Ankara  
Nazime MERCAN, Denizli  
Nazmi ÖZER, Ankara  
Nilay ÇÖPLÜ, Ankara  
Nur AKSAKAL, Ankara  
Nur Münevver PINAR, Ankara

Nuran ESEN, İzmir  
Oğuz GÜRSOY, Denizli  
Orhan BAYLAN, İstanbul  
Orhan YILMAZ, Ankara  
Özlem KURT AZAP, Ankara  
Pınar KAYNAR, Ankara  
Pınar OKYAY, Aydın  
Rahmet GÜNER, Ankara  
Recep AKDUR, Ankara  
Recep KEŞLİ, Afyonkarahisar  
Recep ÖZTÜRK, İstanbul  
Rıza DURMAZ, Ankara  
S. Aykut AYTAÇ, Ankara  
Saime ŞAHİNÖZ, Gümüşhane  
Sami AYDOĞAN, Kayseri  
Sarp ÜNER, Ankara  
Seçil ÖZKAN, Ankara  
Seda KARASU YALÇIN, Bolu  
Seda TEZCAN, Mersin  
Selçuk KAYA, Trabzon  
Selçuk KILIÇ, Ankara  
Selim KILIÇ, Ankara  
Selin NAR ÖTGÜN, Ankara  
Sema BURGAZ, Ankara  
Semra Ayşe GÜREŞER, Çorum  
Sercan ULUSOY, İzmir  
Sultan ESER, İzmir  
Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Manisa  
Sümer ARAS, Ankara  
Şule SENSES ERGÜL, Ankara  
Tevfik PINAR, Kırıkkale  
Turan BUZGAN, Ankara  
Yeşim ÖZBAŞ, Ankara  
Yunus Emre BEYHAN, Van  
Zafer ECEVİT, Ankara  
Zafer KARAER, Ankara  
Zati VATANSEVER, Kars  
Zeynep GÜLAY, İzmir

## TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ YAZIM KURALLARI

Dergide yayımlanmak üzere gönderilen yazılar, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi yazım kurallarına göre hazırlanmalıdır. Başvurular [www.turkhiyjen.org](http://www.turkhiyjen.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 üstlenen yazarın açık adresi, telefon numaraları (sabit ve cep), elektronik posta adresi belirtilmelidir:

- Yazının başlığı kısa olmalı ve küçük harfle yazılmalıdır.
- Sayfa başlarına konan kısa başlık 40 karakteri geçmemelidir.
- Çalışma bilimsel bir kuruluş ve/veya fon ile desteklenmişse dipnot veya teşekkür bölümünde mutlaka belirtilmelidir.
- 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 staflok, streptokok gibi dilimize yerleşmiş cins adları Türkçe olarak yazılabilir. Antibiyotik isimleri dil bütünlüğü açısından okunduğu gibi yazılmalı; uluslararası standartlara uygun olarak kısaltılmamalıdır.

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"ni 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 numaralandırılmıdır. Numaralar, parantez içinde cümle sonlarında verilmelidir. Kaynakların yazılımlı 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.

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

• Yazarı yazılmemiş 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 savakların hidrolik karakteristiklerinin deneysel olarak incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2005.

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

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

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

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

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

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

16. Bu kurallara uygun olmayan metinler kabul edilmez.

17. Yazarlar teslim ettikleri yazının bir kopyasını saklamalıdır.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü

Tel : (0312) 565 55 79

Faks : (0312) 565 55 91

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

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

Articles should be prepared according to the rules of the Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology. Submissions can be made online at the address [www.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, Unl  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 papeyars: 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  . Experimental investigation of the hydraulic characteristics of labyrinth weir. Master Thesis, Science Institute of Firat University, 2005.

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

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

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

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

12. Research articles should have up to 40 references.

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

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

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

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

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

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

Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

General Directorate of Public Health

Tel : +90 312 565 55 79

Fax : +90 312 565 55 91

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

# TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

## YAYIN İLKELERİ

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

## YAZAR(LAR) İÇİN MAKALE KONTROL LİSTESİ

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

## EDITORIAL POLICY

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

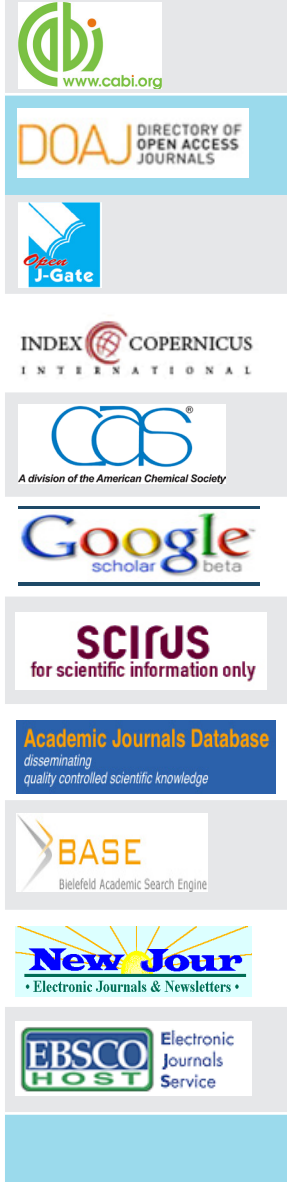
## CHECKLIST OF THE ARTICLE FOR AUTHOR(S)

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



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

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



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

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



## İLETİŞİM

## CORRESPONDENCE

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü  
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi Editörlüğü

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

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

Tel: 0312 565 55 79

Faks: 0312 565 55 91

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

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

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



## ■ Araştırma Makalesi / Original Article

1. **Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae ve Pseudomonas aeruginosa ile immunize edilen tavuklardan elde edilen IgY antikorlarının etkinliğinin ELISA yöntemiyle araştırılması**  
Investigation of the effectiveness of IgY antibodies obtained from chickens where immunized with *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* by ELISA  
Ali AFANDI, Funda DOĞRUMAN-ALA  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2019.67366 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 379 - 390  

2. **Üçüncü basamak bir hastanede iki yıllık HIV pozitifliklerinin değerlendirilmesi**  
Evaluation of two-year HIV positivity in a tertiary hospital  
Pınar ŞAMLIOĞLU, Yeşer KARACA-DERİCİ, Sevgi YILMAZ-HANCI, Güliz DOĞAN, Arzu BAYRAM, Neval AGUŞ, Nisel YILMAZ, Şükran SABA-ÇOPUR, Sebahat ŞEN-TAŞ  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2019.70370 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 391 - 394  

3. **Klinik Pseudomonas aeruginosa izolatlarının virülans özellikleri ve epidemiyolojik ilişkisi**  
The virulence characteristics and epidemiological relationship of clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates  
Nilüfer UZUNBAYIR-AKEL, Yamaç TEKİNTAŞ, Fethiye Ferda YILMAZ, İsmail ÖZTÜRK, Mustafa ÖKEER, Sabire Şöhret AYDEMİR, Fatma Feriha ÇILLI, Mine HOŞGOR-LIMONCU  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2019.68235 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 395 - 404  

4. **Hemovijilans hemşireliği ve transfüzyon güvenliğine katkısı**  
Hemovigilance nursing and contribution to transfusion safety  
Rabiya GÜN, Semra ÖZ, Selma ALTINDIŞ, Yeşim UYUTAN, Mehmet KOROĞLU, Mustafa ALTINDIŞ  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2019.19970 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 405 - 414  

5. **Hematological aspects of extrahepatic portal vein obstruction in childhood**  
Çocukluk çağında ekstrahepatik portal ven obstrüksiyonuna hematolojik bakış açısı  
Neslihan KARAKURT, Fatma DEMİRBAŞ, Gönül ÇALTEPE, Canan ALBAYRAK, Ayhan Gazi KALAYCI  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2019.89106 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 415 - 422  

6. **Cytomegalovirus (CMV) screening results in pregnant women admitted to a tertiary center in the Middle Anatolia**  
Orta Anadolu bölgesinde tersiyer bir merkeze başvuran gebelerde Sitomegalovirüs (CMV) tarama sonuçları  
Özgür KAN, Özgür KOÇAK  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2019.55631 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 423 - 430  

7. **Çorum ilinde hemşirelik öğrencilerinin kist hidatik hakkındaki bilgi düzeyleri ve tutumları**  
Knowledge and attitudes of nursing students about cystic hydatid in Çorum Province  
Gülşay YILMAZEL, Derya YAPAR, Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2019.95826 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 431 - 440  

8. **Ünye ilçesinde Ağustos 2017'de meydana gelen norovirüs ilişkili su kaynaklı bir salgın üzerinden epidemiyolojik yaklaşım, kontrol önlemleri, zorluklar**  
Epidemiological approach, control measures and challenges of a norovirus-associated waterborne outbreak in Ünye district in August 2017  
Zeynep Özge ÖZGÜLER, Fehminaz TEMEL, Pınar DUMAN, Çağrı Emin ŞAHİN  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2019.80106 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 441 - 452  

9. **Cystic echinococcosis cases in a tertiary hospital between 2006 and 2016**  
Üçüncü basamak bir hastanede 2006-2016 yılları arasında kistik ekinokokkozis vakaları  
Arif Dogan HABİLOĞLU, Duygu MERT, Niyazi KARAMAN, Guray TOGRAL, Mustafa ERTEK  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2019.99076 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 453 - 460  

10. **HIV ile enfekte obez bireylerde Sistatin-C**  
Cystatin-C in HIV-infected obese individuals  
Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK, Hakkı ARIKAN, Serpil ÇEÇEN  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2019.43650 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 461 - 468  

- Derleme / Review
11. **Bruselloz düşünüyorum ama doğrulayamıyorum: Seronegatif Bruselloz**  
I think of Brucellosis but can not verify: Seronegative Brucellosis  
Ahmet SERTÇELİK, Turan BUZGAN  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2019.93609 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 469 - 472  

12. **Onkolojik ilaç geliştirilmesinde yeni nesil dizileme teknolojisine dayalı farmasötik uygulamalar**  
Pharmaceutical applications based on next generation sequencing technology in oncologic drug development  
Sevcan YANGIN, Ümmügülüm TANMAN, Demet CANSARAN-DUMAN  
Doi: 10.5505/TurkHijyen.2019.33576 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 473 - 486  




## *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* ile immunize edilen tavuklardan elde edilen IgY antikorlarının etkinliğinin ELISA yöntemiyle araştırılması

Investigation of the effectiveness of IgY antibodies obtained from chickens where immunized with *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* by ELISA

Ali AFANDI<sup>1</sup>, Funda DOĞRUMAN-ALA<sup>2</sup>

### ÖZET

**Amaç:** IgY antikorları; tavukların serum ve yumurta sarısında bulunan enfeksiyon sırasında çoğalarak mikroorganizmalara karşı yüksek miktar spesifik antikorlardır. Bu antikorların yumurta sarısına transfer olduğu da bilinmektedir. IgY teknolojisi, tavuk yumurtasında antikor üretmeye ve izole etmeye dayanan bir yöntemdir. IgY antikorunun yumurta sarısından izolasyonu koyun, keçi ve tavşan gibi hayvanların kanından izole edilmesine göre daha kolay, non-invaziv, uzun ömürlü ve yüksek miktarda sentezlenmesi gibi avantajlara sahiptir. Tavuk antikorlarının, tanı yöntemlerinde kullanılması, memeli antikorlarına göre daha düşük maliyete neden olabilecektir. Çalışmamızda, nosokomial pnömoni etkeni olarak sık tanımlanan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) ve *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) bakterilerine karşı IgY eldesi ve antikorların etkinliğinin ELISA yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Tavukların immunizasyonu, *S. aureus* ATCC 6538, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *K. pneumoniae* ATCC13883 bakterileri kullanılarak hazırlanan antijen

### ABSTRACT

**Objective:** IgY antibody is found in chickens' serum and egg yolk. IgY antibody in chickens is specific antibodies that develop highly against microorganisms during infection and is known to be transferred to egg yolk. IgY technology is a method based on producing and isolating antibodies in chicken eggs. The isolation of the IgY antibody from egg yolk is more easier to isolate, non-invasive, long life and higher in amount than it's isolation from sheep, goat and rabbit. Chicken antibodies used in diagnostic methods, will be lower cost than the mammalian antibody. In this study, the aim was to produce IgY antibodies against bacteria of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) and *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) which are commonly identified as the cause of nosocomial pneumonia and to investigate the efficiency of these antibodies by of ELISA method.

**Methods:** Immunization of chicken was performed using *S. aureus* ATCC 6538, *P. aeruginosa* ATCC 27853 and *K. pneumoniae* ATCC13883 bacteria grown in blood agar and inactivated subsequently. Twenty-two-week-old Lohmann Brown laying hens were immunized

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı



İletişim / Corresponding Author : Ali AFANDI

Gazi Üni. Sağlık Bilimler Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji A.D. Ankara-Türkiye  
Tel : +90 535 922 98 16 E-posta / E-mail : aliafandy202@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 26.02.2019  
Kabul Tarihi / Accepted : 31.03.2019

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2019.67366

Afandi A, Doğruman-Ala F. *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* ile immunize edilen tavuklardan elde edilen IgY antikorlarının etkinliğinin ELISA yöntemiyle araştırılması. Türk Hij Den Biol Derg, 2019; 76(4): 379-390

süspansiyonu 22 haftalık Lohmann Brown cinsi yumurta tavuklarına Freund's tamamlanmış adjuvanı ile kas içine enjekte edilerek gerçekleştirildi. Hatırlatma immunizasyonları iki hafta aralıklarla dört kere Freund's tamamlanmamış adjuvant kullanarak yapıldı. Bakterilere karşı oluşan IgY antikorlarının saflaştırılması ve elde edilmesi için PEG 6000 kullanıldı. Antikorların etkinliği ELISA yöntemi ile değerlendirildi. İmmunize edilen ve edilmeyen tavukların yumurtalarından izole edilen IgY antikorlarının OD değeri karşılaştırıldı.

**Bulgular:** *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* ile immunize edilmiş ve edilmemiş tavukların IgY antikorları arasındaki OD değerleri farklı dilüsyonlarda (1/100 ve 1/1000) karşılaştırıldığında; immunize olan tavukların yumurtalarından izole edilen IgY antikorlarının OD değerlerinin ODC değerinden daha yüksek olduğu saptanmıştır ( $p<0.05$ ).

**Sonuç:** Çalışmamızda elde edilen veriler nozokomiyal pnömoni etkeni olarak sık izole edilen bakterilere karşı tavuklardan elde edilen IgY antikorlarının etkinliğinin yüksek olduğunu göstermiştir. IgY antikorlarının non invaziv, hızlı ve düşük maliyetli elde edilebilmesi bu antikorların son 10 yılda tanıda kullanılmasının yanı sıra bazı hastalıklara karşı korunmada ve tedavi seçenekleri arasında yer almasını sağlamıştır. IgY antikorlarının gelecekte tanı ve tedavi amacıyla etkin olarak kullanılabilmesi düşüncesine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** IgY antikor, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, tanı, tedavi, ELISA

through intramuscular injection with Freund's complete adjuvant and re-stimulate immunizations with Freund's incomplete adjuvant were performed four times at an interval of two weeks. PEG 6000 procedure was used for the isolation and purification of IgY antibodies synthesized by immunized hens against bacteria. Efficacy of antibodies was evaluated with ELISA method and OD values of IgY the antibodies isolated from the eggs of immunized and non-immunized hens were subjected to comparison.

**Results:** IgY antibodies isolated from hens immunized with *S. aureus*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* bacterial antigens and from non-immunized hens were compared in order to determine OD values with ELISA method. In both dilutions (1/100 and 1/1000) IgY OD values of immunized hens were observed to be higher than the calculated cut off value (ODC) ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** The data obtained from a study shows high efficacy of IgY antibodies isolated from chickens against bacteria which are commonly identified as the cause of nosocomial pneumonia. The fact that IgY antibodies can be obtained quickly through non-invasive cost-effective methods allowed these antibodies to be used in diagnostic procedures over the past decade as well as making them a viable choice among prevention and treatment options against certain diseases. Therefore, based on the results of this study, it was concluded that IgY antibodies might be largely and actively used for the purposes of diagnosis and treatments in the future.

**Key Words:** IgY antibody, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, diagnosis, treatment, ELISA

## GİRİŞ

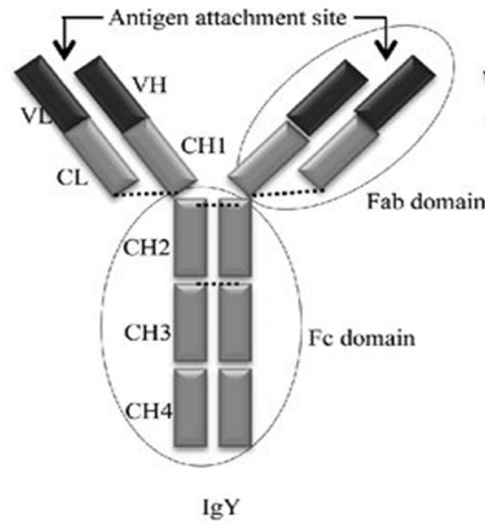
IgY antikorları, ilk defa Klempere tarafından 1893 yılında mikroorganizmalarla immunize edilen tavukların yumurtalarının sarısından elde edilmiş ve oluşan bu antikorların mikroorganizmalara spesifik olduğu bildirilmiştir (1). IgY antikorları 1980'lerden

bu yana daha geniş uygulama alanlarında yer almıştır. Antikorların elde edilmesinin non-invazif olması nedeniyle 1996 yılında IgY teknolojisi European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM) araştırma ekibi tarafından alternatif bir antikor elde

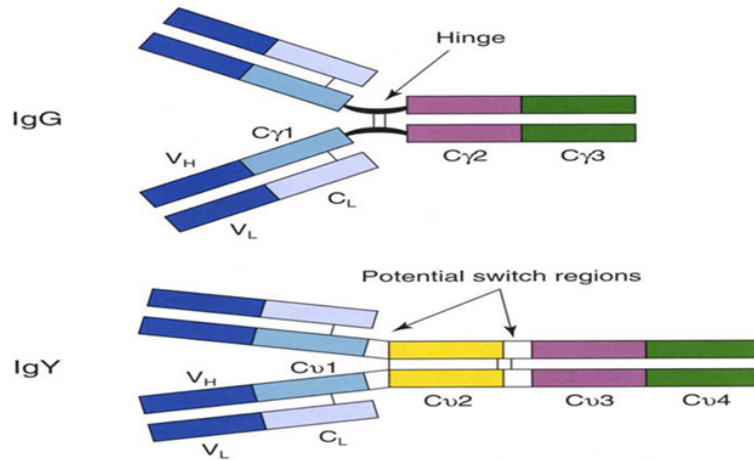
etme yöntemi olarak tavsiye edilmiştir (1). IgY teknolojisi 1999 yılında, İsviçre Hükümeti Veteriner Dairesi tarafından hayvan sağlığını desteklemek amacıyla kullanabilecek alternatif bir yöntem olarak kabul görmüştür (1).

IgY molekülünün genel yapısı memelilerde bulunan IgG'ye benzer olup, iki ağır (H) ve iki hafif (L) zincirden oluşmaktadır. IgY (H) veya upsilon (U) zincirleri, tipik olarak bir değişken (V) ve dört sabit (C) bölgeye sahiptir (Şekil 1) (2, 3). IgY ağır zinciri 67-70 kDa tek tip olarak bilinmektedir. IgY'nin C1-C2 ve C2-C3 bağlantılarının yan kısmında prolin, glisin

rezidüleri içeren ve kısıtlı esneklik sağlayan bölgeleri bulunmaktadır. Sadece memeli IgG antikoruna özgü olan ve esneklik sağlayan menteşe bölgesine IgY antikor yapısındaki C1 ve C2 arasındaki bölge işlevsel olarak benzer özellik göstermektedir. IgY antikorunun bu yapısal özelliğinden dolayı IgG'ye göre esnekliği daha azdır ve bu nedenle antijenle bağlanma yeteneği daha spesifiktir. Ayrıca IgY 5.7-7.6 izoelektrik noktasına sahiptir ve bu sebeple IgG'den daha hidrofobiktir. Bu özelliği zengin yağ içeriğine sahip olan yumurta sarısına uyum sağlamasına neden olmaktadır (Şekil 2) (2, 4).



Şekil 1. IgY molekülünün genel yapısı (3)



Şekil 2. IgY ve IgG antikorlarının molekül karşılaştırılması (2, 4)

IgY antikorlarının IgG antikorlarına göre antijenlere afinitesinin 3-5 kat daha fazla olduğu bildirilmektedir. IgY antikorlarının güvenli ve dayanıklı yapıya sahip olması, tedavi ve koruma amacıyla kullanılmasını sağlamaktadır. IgY antikorlarının başlıca etki mekanizmaları ise; mikrobiyal ajanların hücre yüzeyine adezyonunu ve kolonizasyonunu etkilemesi, virüslerin hücreden hücreye geçişi sırasında spesifik bağlanmalar ile kolonizasyonun engellenmesi, sindirim sistemindeki patojenlerin aglütinasyonu ile toplu bir şekilde sindirim sisteminden atılmalarının sağlanması, patojenlerin enzim aktivitelerinin düşürülmesi ve toksinlerin nötralizasyonu şeklinde olmaktadır. Literatürde bu etkilerin hayvan modellerinde ve aynı zamanda klinik çalışmalarda da kullanıma uygun olduğu bildirilmektedir (3). IgY antikorlarının fiziksel ortamlardaki dayanıklılığını göstermek için yapılan çalışmalarda, ısıya karşı geniş bir aralıkta (0-70°C) aktivitesini kaybetmediği, pH 3,5-11 değerlerinde aktivitesini koruduğu, 4000 kg/cm<sup>2</sup>'lik basınca dayandığı gösterilmiştir. IgY'nin insanlar için kullanılmasına FDA (Food and Drug Administration), GRAS (Generally Recognized As Safe) ve USDA (US. Department of Agriculture) gibi otoriteler de onay vermişlerdir (3). Çeşitli avantajları doğrultusunda IgY 'nin tıp ve veterinerlikte tedavi ve koruma amacıyla kullanılmıştır. Çocuk bağırsak enfeksiyonlarının önlenmesinde ve *Helicobacter pylori* enfeksiyonlarının tedavisinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir (5). Diş çürüklerinin önlenmesinde anti-*Streptococcus mutans* IgY içeren ağız çalkantı sularının kullanılması etkili bulunmuştur (6). Kistik fibrozis hastalarında anti-*P. aeruginosa* IgY içeren ağız çalkantı suyu ile ağız çalkaması uygulandığında, hastalarda kronik *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının sıklığında azalma olduğu tespit edilmiş ve antibiyotik kullanımının sınırlandırmasında yararlı olduğu belirtilmiştir (5, 7). Deneysel çalışmalarda da *S. aureus* ve *Escherichia coli*'ye karşı IgY 'nin bakteri üremesini inhibe ettiği gösterilmiştir (8). Ayrıca veterinerlik alanında köpeklerde parvovirüs, rotavirüsler ve coronavirus enfeksiyonlarının

tedavisinde IgY antikorunun kullanımında olumlu sonuçlar elde edilmiştir (1).

IgY uygulamaları biyomedikal araştırmalarda da kullanılmaktadır. IgY-bazlı immünoanalizler, proteinlerin veya peptidlerin konsantrasyonlarının ELISA ile ölçülmesi ve klinik kimya çalışmalarında da kullanılmıştır (1, 2). IgY antikorları, viral, bakteriyel, evcil hayvanlarda bağırsak parazitleri ve bitki antijenlerinin tespiti için ve gıdalarda toksinleri saptamak amacıyla yapılan araştırmalarda da kullanılmıştır (2).

Çalışmamızda, nozokomiyal pnömoni etkeni olarak sık tanımlanan *S. aureus*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* bakterilerine karşı oluşan IgY antikorlarının eldesi ve bu antikorların etkinliğinin ELISA yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Bakterilerin kültürlerinin yapılması ve antijen elde edilmesi

Bu çalışma 01.07.2018-30.01.2019 tarihlerinde gerçekleştirildi. Çalışmamızda *S. aureus* ATCC 6538, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *K. pneumoniae* ATCC 13883 bakterileri kullanıldı. Boncuklu saklama tüplerinde (Mikrobank, ABD) -20°C'de saklanan bakteriler oda sıcaklığında çözüldü ve biyogüvenlik kabininin içinde steril ortamda kanlı besiyerine (%5 koyun kanlı agar) ekim yapıldı. Ekim yapılan plaklar 37 °C'de gece boyunca etüvde inkübe edildi. Üreyen koloniler 1 ml PBS (Phosphate Buffer Solüsyonu) içeren tüplere aktarıldı. Bakteri süspansiyonu içeren tüpler 3000 rpm 'de 20 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısmı atıldı ve yıkama işlemi PBS ile üç defa tekrarlandı. Bakteri inaktivasyonu kuru ısıtıcıda 650 °C'de 35 dakika bekletilerek gerçekleştirildi. İşlem sonrası oluşan artıkları uzaklaştırmak amacıyla 9000 rpm 'de 20 dakika santrifüj yapıldı ve süpernatant kısmı atıldı. Tüplerin dibinde kalan pelletin üzerine 500 µl PBS eklenerek protein miktarı 0,5 mg/ml olacak şekilde nanodrop spektrofotometrede (Thermo, ABD) ayarlandı ve immunizasyon için kullanıldı (9).



## Tavuklar ve İmmünizasyon

Çalışmamızda, 22 haftalık Lohmann Brown cinsinden 11 adet tavuk kullanıldı. Bu çalışma için gerekli hayvan etik kurul izini alındı (tarihi 27/06/2018 ve karar no:2018/23). Her bakteri için üçer ve iki adette negatif kontrol olacak şekilde toplam 11 adet tavuk kullanıldı. *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae*'den hazırlanan 0,5 mg/ml antijen ve aynı hacimde Freund's tamamlanmış (complete) adjuvanı ile toplam 500 µl olacak şekilde insülin enjektörü kullanılarak tavukların sağ ve sol göğüs kaslarına iki farklı yere immunizasyon yapıldı (Şekil 3). Hatırlatma immunizasyonları iki hafta aralıkla dört kere 0,5 mg/ml antijen ile Freund's tamamlanmamış (incomplete) adjuvanı kullanarak yapıldı. İmmünize edilen ve edilmeyen tavuklardan 35. günden itibaren yumurtalar iki ay boyunca toplandı (1yumurta/gün). Yumurtalar günlük olarak etiketlenip +40 °C'de saflaştırma işlemine kadar muhafaza edildi (10).

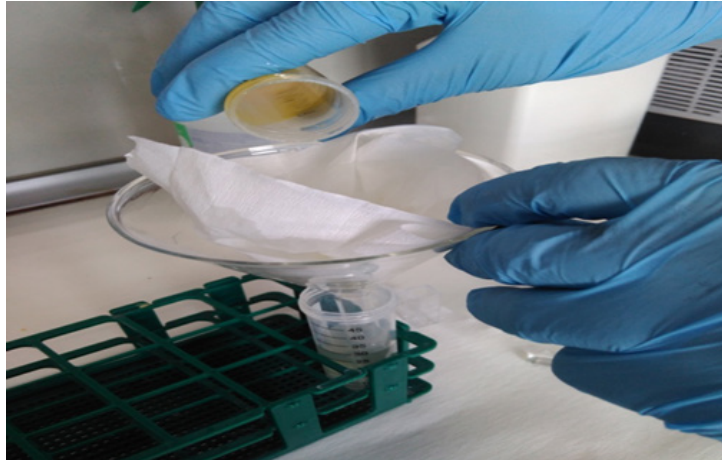
## IgY antikorlarının elde edilmesi ve saflaştırılması

İmmünize edilen ve edilmeyen tavuklardan toplanan yumurtalar %70' lik alkol ile dezenfekte edildikten sonra kırılarak sarısı ile beyaz kısmı ayrıldı. Yumurtanın sarı kısmı 50 ml'lik tüplere aktarıldı ve tüpteki son hacmin üzerine iki kat PBS eklendi. Bu

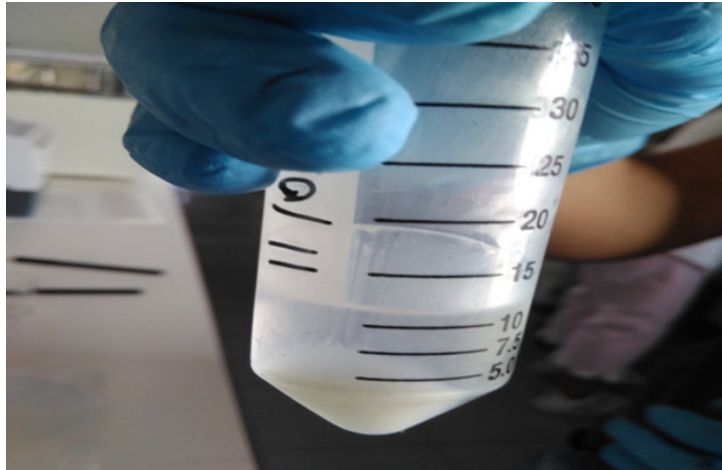
işlem her yumurta için ayrı ayrı yapıldı. Tüplerdeki son hacmin üzerine toz halinde Polyethylene glycol (PEG) (Merck, Almanya) 6000'den gram olacak şekilde %3,5 oranında eklenerek dönen silindir mikserde (roller mixer) (Stuart, İngiltere) karıştırıldı. Son karıştırma işleminden sonra tüpler ultrasantrifüj (Thermo, ABD) ile 13000g, +40 °C'de 20 dakika boyunca santrifüj edildi ve işlem sonrası üst kısımda oluşan süpernatant kağıt filtreye filtrasyon yapılarak başka bir tüpe aktarıldı (Şekil 4). Son hacmin üzerine %8,5 ağırlığında PEG 6000 ilave edildi ve tekrar 13000g, +40 °C'de 20 dakika santrifüj işlemi uygulandı (Şekil 5). Bu işlem sonrası tüplerdeki süpernatant atıldı, dipte kalan pellet 1 ml PBS içerisinde çözdürüldü. Pelletin üzerine PBS ilave edilerek son hacim 10 ml olacak şekilde tamamlandı ve üzerine %12 ağırlığında PEG 6000 eklenip yukarıda belirtilen aynı hız ve koşullarda santrifüj edildi. Tekrar süpernatant atıldı, son pellet 800 µl PBS içerisinde çözdürüldü, mikrodializ kapsülüne (QuixSep, ABD) eklendi ve kapsül distile su içinde hazırlanan %0,1 NaCl çözeltisinde manyetik karıştırıcıda (Heidolph MR 3000, Almanya) gece boyu diyalize tabi tutuldu. İzole edilen IgY antikorlarının protein konsantrasyonu nanodrop spektrofotometre ile (Thermo, ABD) 280 nm'de ölçüldü (Şekil 6) (11, 12).



Şekil 3. Hazırlanan bakteri antijenleri ile tavukların immunizasyonu



Şekil 4. Kağıt filtreyle filtrasyon



Şekil 5. Filtrasyon sonrası süpernatant ve PEG 6000 karışımı



Şekil 6. Mikrodiyaliz kapsülüne antikor süspansiyonunun eklenmesi

## ELISA yöntemi ile IgY antikorlarının etkinliğinin belirlenmesi

### ELISA çalışmasında kullanılan solüsyonlar:

Kaplama solüsyonu; 200 ml distile suya 0,318 g sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), 0,586 g sodyum bikarbonat (NaHCO<sub>3</sub>) ve 0,04 g sodyum azide (Na<sub>2</sub>N<sub>3</sub>) eklenerek pH: 9,6 olacak şekilde hazırlandı.

Phosphate Buffer Solüsyonu (PBS): piyasada ticari olarak bulunan PBS tabletlerinden (Sigma Aldrich, ABD) (1 tablet/100 ml distile su) pH:7,4 olacak şekilde hazırlandı.

PBS/Tween20; hazır PBS çözeltisine %0,05 (v/v) olacak şekilde Tween20 ilave edilerek hazırlandı.

Bovine Serum Albumin (Sigma Aldrich, ABD) (BSA) çözeltisi; toz şeklinde bulunan BSA 'den 4,83 mg tartılarak 1 ml PBS solüsyonu içerisinde hazırlandı.

Bloklama Tamponu; 12 ml PBS/Tween20 solüsyonuna BSA çözeltisinden 12 µl eklenerek hazırlandı.

Substrat Çözeltisi; paranitrofenil fosfat (Sigma Aldrich, ABD) (pNPP) içeren tabletlerden 10 ml distile su içine bir tane tablet konularak 10 dakika mikserde karıştırılarak hazırlandı.

**Antijen Hazırlaması:** Kanlı agarda üreyen bakteri kültürlerinden steril eküvyonla 3-5 koloni alınarak 1 ml PBS içeren tüplere aktarıldı ve 3000 rpm 'de 20 dakika santrifüj edilerek yıkama işlemi yapıldı. Süpernatant atılıp yıkama işlemi tekrarlandı. Pelletin üzerine 1 ml PBS eklendi ve bakterileri parçalamak için beş kez sıvı nitrojende dondurulup 37°C'lik su banyosunda çözüldü. Hücre artıklarını uzaklaştırmak amacıyla antijen içeren tüpler 9000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi ve üstteki berrak kısım (antijen) toplandı. Toplanan antijenin, kaplama solüsyonu içindeki son konsantrasyon 1-2 µg/100 µl protein (antijen) olacak şekilde hazırlandı ve ELISA plağının her kuyusuna kuyu başına 100µl eklenip +4°C'de gece boyu inkübe edildi. Plaklar PBS /Tween20 ile üç defa yıkandı, her kuyuya 100µl bloklama solüsyonu eklenerek 37°C'de

1 saat inkübe edildi. Tekrar üç defa PBS/Tween 20 ile yıkanan plaklar oda ısısında kuruduktan sonra tekrar kullanılabilece kadar -20°C'de saklandı.

**Testin Çalışılması:** Tüm yumurtalardan izole edilen IgY antikorlarının PBS/Tween20 içinde 1/100, 1/1000 ve 1/10000 seri dilüsyonları hazırlandı. Her dilüsyon için dört kuyucuk kullanıldı. Bakteri antijenleri ile kaplı ELISA plaklarındaki kuyulara antikor dilüsyonlarından 100µl ilave edildi. Plaklar etüvde 1 saat inkübe edildikten sonra PBS/Tween20 ile üç defa yıkandı. Yıkama ardından 1:1000 olarak sulandırılan HRP (horseradishperoxidase) ile konjuge edilmiş keçi anti-tavuk IgY (Sigma Aldrich, ABD) sekonder antikorlarından her kuyuya 100µl eklendi. Plaklar etüvde 1 saat inkübe edildikten sonrası PBS/Tween20 ile beş kez yıkama yapıldı. Yıkama işleminden sonra her kuyuya substrat tamponundan 100 µl eklendi ve 30-45 dakika oda ısısında karanlık ortamda inkübe edildi. ELISA plaklarında oluşan renk değişimi 405 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Thermo, ABD) ölçüldü (10, 13, 14).

**Cutoff Değerinin Hesaplanması:** İmmunize edilmeyen tavuk yumurtalarından izole edilen IgY antikorlar ile elde edilen OD'nin ortalaması +2X SD (ODC) şeklinde hesaplandı.

**İstatistiksel Analiz:** İmmunize edilen ve edilmeyen tavuklardan elde edilen IgY antikorlarının OD değerlerinin karşılaştırılması için gerekli istatistiksel analizler Statistical Packages of Social Sciences (SPSS, version 20.0 for Windows) bilgisayar programında Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı ve p<0,05 değeri istatistiki olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

*S. aureus*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* bakteri antijenleri ile immunize edilen ve edilmeyen tavuk yumurtalarından izole edilen IgY antikorlarının miktarı nanodrop spektrofotometre 280 nm'de ölçüldü (Tablo 1).

IgY antikorlarının her iki dilüsyonunda da (1/100 ve 1/1000 ) ELISA metodu ile saptanan OD değerleri karşılaştırıldığında; immunize edilen tavukların IgY OD değerlerinin hesaplanan cutoff değerinin üzerinde olduğu saptandı (Tablo 2 ve Şekil 7-9).

Çalışmamızda immunize edilen tavuklardan izole

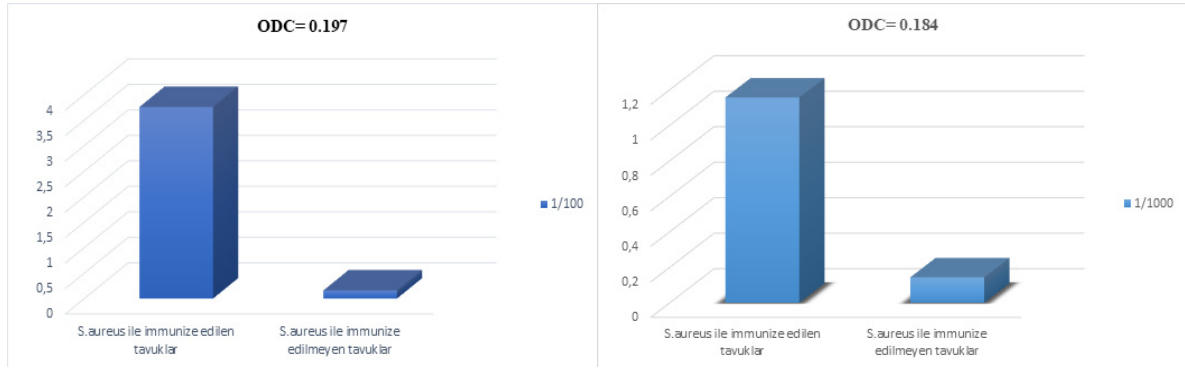
edilen IgY antikorlarının hem 1/100 dilüsyonda hem de 1/1000 dilüsyondaki OD değerlerinin immunize edilmeyen tavuk yumurtalarından izole edilen OD 'lerle karşılaştırılması sonucunda her iki dilüsyonda da OD değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği saptanmıştır.

**Tablo 1.** Çalışmamızda kullanılan bakterilere karşı elde edilen IgY antikor düzeyleri

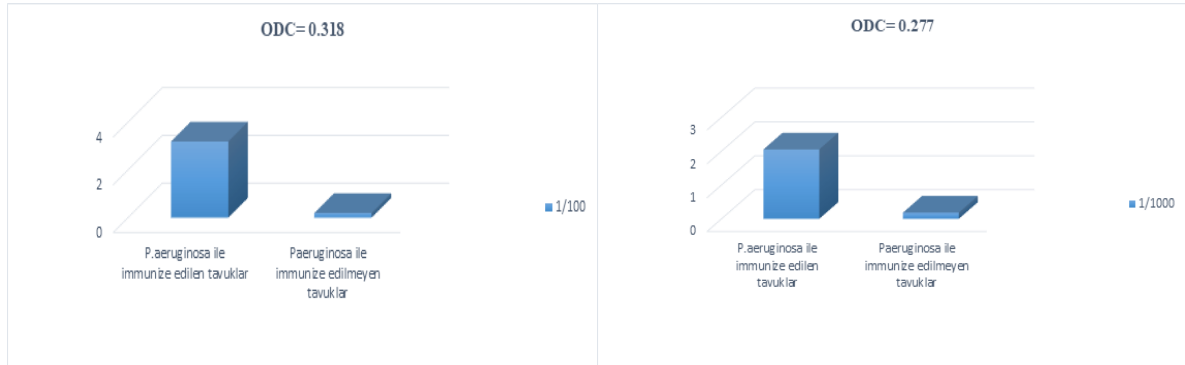
Bakteriler	mg/ml
<i>S. aureus</i> ATTC 6538	14.63
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	3.70
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	1.33
Negatif kontrol (immunize edilmeyen)	0.93

**Tablo 2.** Çalışmamızda kullanılan bakterilere karşı elde edilen IgY antikorunun farklı dilüsyolardaki OD, ODC ve P değerleri

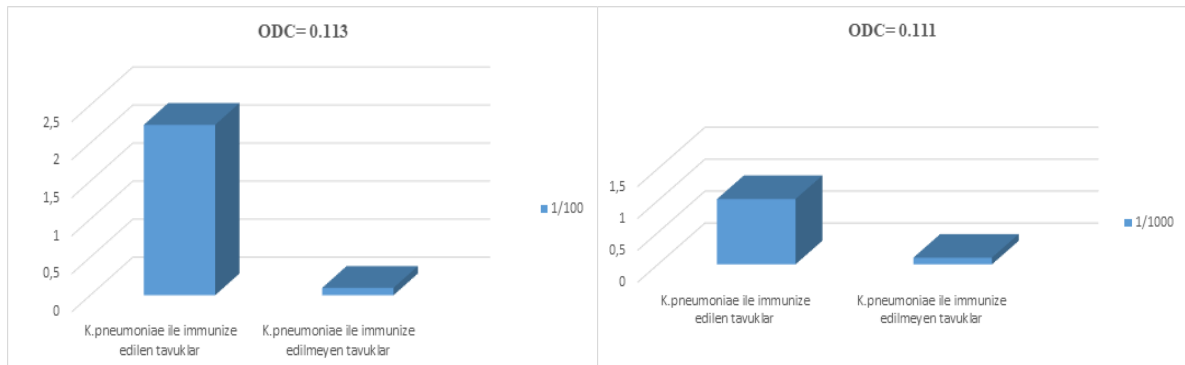
Antikorlar		OD	Cutoff (ODC)	P değeri
Anti- <i>S. aureus</i> IgY	1/100 dilüsyon	3.76	0.197	p<0,001
	1/1000 dilüsyon	1.156	0.184	p<0,001
Anti- <i>P. aeruginosa</i> IgY	1/100 dilüsyon	3.19	0.318	p<0,001
	1/1000 dilüsyon	2.05	0.277	p<0,001
Anti- <i>K. pneumoniae</i> IgY	1/100 dilüsyon	2.24	0.113	p<0,001
	1/1000 dilüsyon	1.022	0.111	p<0,001



Şekil 7. *S. aureus* ile immunize edilen ve edilmeyen tavuklardan elde edilen IgY antikor (1/100 ve 1/1000 dilüsyonlardaki OD değeri)



Şekil 8. *P. aeruginosa* ile immunize edilen ve edilmeyen tavuklardan elde edilen IgY antikor (1/100 ve 1/1000 dilüsyonlardaki OD değeri)



Şekil 9. *K. pneumoniae* ile immunize edilen ve edilmeyen tavuklardan elde edilen IgY antikor (1/100 ve 1/1000 dilüsyonlardaki OD değeri)

## TARTIŞMA

Son yıllarda tavuklardan elde edilen IgY antikorlarının tanıda kullanımı, memelilerden elde edilen IgG antikorlarına göre sağladığı avantajlar sayesinde oldukça ilgi çekmektedir. IgY antikorunun ucuz, pratik ve yüksek miktarlarda elde edilebilmesi, antikora dayalı tanı kitlerinin üretiminin maliyetini düşürebilecektir (15, 16). IgY antikorlarının fiziksel ortamlardaki dayanıklılığını göstermek için yapılan çalışmalarda, ısıya karşı geniş bir aralıkta (0-70°C) aktivitesini kaybetmediği, 3,5-11 pH değerlerinde aktivitesini koruduğu, 4000 kg/cm<sup>2</sup>'lik basınca dayandığı gösterilmiştir (5). Yapısal farklılıkları değişik moleküler ve biyokimyasal etkileşimlere de neden olmaktadır. Birçok immunglobulinin biyolojik fonksiyonu Fc bölgesi ile aktive edilmektedir ve bu bölge IgG ve IgY'nin temel yapısal farkının olduğu kısımdır (2). Bu nedenle IgY'nin Fc-bağımlı fonksiyonları da memeli IgG'sinden farklıdır. IgY komplemanı aktive etmemekte, stafilokokal A ve G proteinlerine bağlanmamakta, romatoid faktör gibi memeli antikorlarının tanınamakta ve hücre yüzeyinde bulunan Fc reseptörlerine bağlanmamaktadır (2). Bunun yanında moleküler etkileşimdeki farklılıkları IgY'nin farklı biyoteknolojik ve tıbbi uygulamalarda kullanımını avantajlı hale de getirmiştir (2). Bu özellikleri ile IgY antikorun stabilitesi IgG'den çok daha yüksektir (2, 15). Tavuk IgY'sinin daha yüksek glikolizasyon indeksine sahip olması, horse radish peroxidase ve diğer antikor işaretleyiciler ile daha yüksek afinite ile konjugasyonuna izin vermektedir (15, 17).

Literatürde bu özelliklerin havyan modellerinde ve aynı zamanda klinik çalışmalarda da kullanıma uygun olduğu bildirilmektedir. Bu avantajları doğrultusunda IgY'nin tıp ve veterinerlikte tedavi ve korunma amacıyla çeşitli çalışmalarda kullanıldığı görülmektedir (2, 18).

Nozokomiyal enfeksiyonlar arasında, nozokomiyal hava yolu enfeksiyonları morbidite ve mortalite açısından önemli sorun oluşturmaktadır. Son yıllarda gram negatif bakteriler arasında *Pseudomonas*

türlerinin nozokomiyal hava yolu enfeksiyonlarına ve buna bağlı morbidite ve mortaliteye en çok neden olan bakteri olarak saptandığı görülmektedir (19). *Pseudomonas*'lar en sık mekanik ventilasyon desteğindeki hastalarda ve kistik fibrozisli hastaların akut alevlenmelerinde görülen pnömonilere neden olmaktadır (20). Nozokomiyal enfeksiyonların en sık etkenlerinden biri olan MRSA (Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus*) suşlarının esas kaynağı enfekte veya kolonize hastalar ile birlikte sağlık personelidir (21). *Staphylococcus aureus*, antifagositik kapsül kullanarak, hücre duvarında bulunan protein A ve G ile antikorları Fc bölgesinden bağlayarak ve antijen maskeleyerek gibi immun sisteminden kaçış mekanizmalarını kullanmaktadır (22). Hava yoluyla bulaş, yoğun bakım servislerinde pnömoni olgularında ve yanık ünitesi birimlerinde önem kazanmaktadır (21) *Klebsiella pneumoniae*, yoğun bakım servislerindeki olgularda pnömoniyeye neden olan diğer bir etkidir. *Klebsiella* pnömonisi genellikle üst solunum yollarında kolonize olmuş bakterilerin aspirasyonu sonucu oluşmaktadır. *Klebsiella* pnömonisi gram negatif bakteri pnömonileri arasında az görülmesine rağmen mortalitesi diğer gram negatif bakteri enfeksiyonlarına göre iki kat daha fazladır (23).

Çalışmamızda immunize edilen tavuklardan izole edilen IgY antikorlarının hem 1/100 dilüsyonda hem de 1/1000 dilüsyondaki OD değerlerinin, immunize edilmeyen tavuk yumurtalarından izole edilen OD'ler ile karşılaştırılması sonucunda her iki dilüsyonda da OD değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği saptanmıştır. Bu bulgu yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlarla uyumluluk göstermektedir. Tobias ve ark. (24) yaptıkları çalışmada, *S. aureus* ile immunize edilen ve edilmeyen deve kuşlarının yumurtalarından izole ettikleri spesifik anti-*S. aureus* IgY ve non spesifik IgY antikorlarını beyin-kalp infizyon buyyonda *S. aureus* ile 37°C'de dört saat inkübasyon sonrası katı besiyerine ekim yapmışlardır. Sonuç olarak immunize edilmiş deve kuşlarından izole edilen antikorların bakteri üremesini inhibe ettiği saptanmıştır ve yumurtadan izole edilen antikorların tedavi için kullanımının ümit verici olduğu

belirtmiştir. Thomsen ve ark. (5) yaptıkları çalışmada, kistik fibrozis hastalarında anti-*P. aeruginosa* IgY içeren ağız çalkantı suyu ile ağız çalkaması uygulandığında kistik fibrozis hastalarında kronik *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının önlenmesinde etkili olduğu tespit edilmiş ve antibiyotik kullanımının sınırlandırılmasında yararlı olacağı belirtilmiştir. Bir diğer çalışmada ise IgY antikorlarının *Salmonella* türlerinin üremesi üzerine etkisi araştırılmıştır. *Salmonella* spp ile immunize edilen ve edilmeyen tavukların yumurtasından saflaştırılmış spesifik anti-*Salmonella* spp IgY ve non spesifik IgY antikorları *S. enteritidis* ve *S. typhimurium* ile triptik soya buyyon 37°C'de 4-6 saat inkübasyon sonrası katı besiyerine ekilmiştir. Sonuç olarak immunize edilmiş tavuklardan izole edilen antikorların bakteri üremesini anlamlı düzeyde inhibe ettiği saptanmıştır (25, 26). Uma ve ark. (27) çalışmalarında mastitli sığırlardan izole edilen *K. pneumoniae* ile hazırladıkları antijen süspansiyonuyla immunize ettikleri tavuklardan anti-IgY *K. pneumoniae* antikorlarını izole etmişlerdir. Tavukların düzenli aralıklarla immunize edilmesinin spesifik IgY antikor oluşumunu 1/10000 dilüsyona kadar artırdığı indirek ELISA yöntemi ile gözlemlenmiştir. Elde edilen antikorların *K. pneumoniae* üzerindeki üreme inhibisyon etkisi araştırılmıştır. Todd Hewitt buyyonunda özgül anti-*K. pneumoniae* IgY antikorlarının farklı konsantrasyonlarında (1-5µg/ml), *K. pneumoniae* ile birlikte 37°C'de bir gece inkübasyonu sonrası nutrient agara ekim yapılmış ve tekrar 37°C'de bir gece inkübasyona bırakılmıştır. Kullanılan anti-*K. pneumoniae* IgY konsantrasyonlarından 3µg/ml düzeyi bakteri üreme inhibisyonunun tamamen gerçekleştiği en etkili düzey olarak saptanmıştır. Araştırmacılar

IgY antikorlarının sığır mastitlerinin tedavisinde kullanılabileceği sonucuna varmışlardır. Kosugi ve ark. (28) ise devekuşundan izole edilen anti-influenza IgY antikorlarını kullanarak biyofiltre geliştirmişlerdir. Geliştirdikleri filtre üzerine influenza virüsü püskürtülmüş ve virüslerin % 99.99'nun 10 dakika içinde filtrede tutulduğu saptanmıştır. LeClaire ve ark. (29) stafilkokal entrotoksin B'ye karşı IgY elde etmişler ve yüksek toksisitesi olan toksin ile fare ve rhesus maymunlarının temasından 20 dakika önce ve 4 saat sonra uyguladıkları antikorların tam koruma sağladığını tespit etmişlerdir. Bu çalışma pasif immunizasyonda da IgY'nin etkili olduğunu göstermiştir.

Sonuç olarak, araştırmamızda, üç bakteriyel etkenle (*S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae*) immunize edilen tavuklardan elde edilen IgY antikorlarının, immunize edilmeyen tavuklardan izole edilen antikorlarına göre ELISA yönteminde saptanan OD değerlerinin daha yüksek olduğu istatistiksel olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu bulgular; çalışmamızda kullandığımız bakterilerle gelişecek enfeksiyonların hızlı tanısı için ticari tanı testlerinin üretilmesi, yoğun bakım ünitelerinde gelişecek nozokomiyal enfeksiyonların önlenmesi amacıyla hava filtrelerin üretilmesi, riskli hastalar için koruyucu amaçlı ürünlerin (ağız çalkantı suyu, topikal solüsyonlar) ve pasif immuzasyon uygulamalarının geliştirilmesi için ümit verici olmuştur.

IgY antikorların elde edilmesinin hızlı, düşük maliyetli ve pratik olması nedeniyle gelecekte bilimsel araştırma, tanı ve immun tedavi amacıyla IgY antikorlarının etkin olarak kullanılabileceği düşüncesine varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Schade R, Terzolo H, editors. IgY-technology: application and trends. World's Poultry Science Association (WPSA) -12th European Poultry Conference, Verona, Italy, 10-14 September; 2006: 10080
2. Narat M. Production of antibodies in chickens. Food Technol Biotechnol, 2003;41(3):259-67.
3. Rahman S, Van Nguyen S, Icatlo Jr FC, Umeda K, Kodama Y. Oral passive IgY-based immunotherapeutics: a novel solution for prevention and treatment of alimentary tract diseases. Hum Vaccin Immunother, 2013; 9 (5): 1039-48.
4. Xu Y, Li X, Jin L, Zhen Y, Lu Y, Li S, et al. Application of chicken egg yolk immunoglobulins in the control of terrestrial and aquatic animal diseases: a review. Biotechnol Adv, 2011; 29 (6): 860-8.

5. Thomsen K, Christophersen L, Bjarnsholt T, Jensen PØ, Moser C, Høiby N. Anti-Pseudomonas aeruginosa IgY antibodies augment bacterial clearance in a murine pneumonia model. *J Cyst Fibros*, 2016; 15 (2): 171-8.
6. Nguyen SV, Icatlo Jr FC, Nakano T, Isogai E, Hirose K, Mizugai H, et al. Anti-cell-associated glucosyltransferase immunoglobulin Y suppression of salivary mutans streptococci in healthy young adults. *J Am Dent Assoc*, 2011; 142 (8): 943-9.
7. Nilsson E, Larsson A, Olesen HV, Wejåker PE, Kollberg H. Good effect of IgY against Pseudomonas aeruginosa infections in cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol*, 2008; 43 (9): 892-9.
8. Kovacs-Nolan J, Mine Y. Passive immunization through avian egg antibodies. *Food Biotechnol*, 2004; 18 (1): 39-62.
9. Kollberg H, Carlander D, Olesen H, Wejåker PE, Johannesson M, Larsson A. Oral administration of specific yolk antibodies (IgY) may prevent Pseudomonas aeruginosa infections in patients with cystic fibrosis: a phase I feasibility study. *Pediatr Pulmonol*, 2003; 35 (6): 433-40.
10. Asadian F, Nikbakht, Gh.R, Nikbakht GR, Tajbakhsh H, Jahantigh M, Niazi Shahraki S, Madadgar O. Development and ELISA-based detection of anti-M2e IgY antibodies using an encoding plasmid for M2e-Hsp70 C-terminal gene. *I J V M*, 2012; 6 (2): 67-71.
11. Hodek P, Trefil P, Simunek J, Hudecek J, Stiborova M. Optimized protocol of chicken antibody (IgY) purification providing electrophoretically homogenous preparations. *Int J Electrochem Sci*, 2013; 8: 113-24.
12. Pauly D, Chacana PA, Calzado EG, Brems B, Schade R. IgY technology: extraction of chicken antibodies from egg yolk by polyethylene glycol (PEG) precipitation. *J Vis Exp*, 2011; (51).e 3084.
13. He J, Hu J, Thirumalai D, Schade R, Du E, Zhang X. Development of indirect competitive ELISA using egg yolk-derived immunoglobulin (IgY) for the detection of Gentamicin residues. *J Environ Sci Health B*, 2016; 51 (1): 8-13.
14. Yamada K, Wanchun J, Ohkura T, Murai A, Hayakawa R, Kinoshita K, et al. Detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus using a specific anti-PBP2a chicken IgY antibody. *Jpn J Infect Dis*, 2013; 66 (2): 103-8.
15. Hodek P, Stiborová M. Chicken antibodies-Superior alternative for conventional immunoglobulins. *Proc. Indian Natn Sci Acad*, 2003; 69 (4): 461-8.
16. Sim JS, Nakai S. Egg uses and processing technologies: new developments. England: Walingford Oxen Cab International; 1994.
17. Larsson A, Bålöw R-M, Lindahl TI, Forsberg P-O. Chicken antibodies: taking advantage of evolution—a review. *Poult Sci*, 1993; 72 (10): 1807-12.
18. Sun S, Mo W, Ji Y, Liu S. Preparation and mass spectrometric study of egg yolk antibody (IgY) against rabies virus. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2001; 15 (9): 708-12.
19. Klockgether J, Tümmler B. Recent advances in understanding Pseudomonas aeruginosa as a pathogen. *F1000Research*, 2017; 6.
20. Yaman G, Çıkman A, Parlak M, Güdücüoğlu H, Berktaş M, Van Dalı TMA, et al. Nozokomiyal Kökenli Pseudomonas aeruginosa İzolatlarında Metallo-Beta-Laktamaz Sıklığı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2014; 44 (4): 139-143.
21. Biçer AT. Hastane İzolatı Staphylococcus aureus ve Koagülaz Negatif Staphylococcus Suşlarında Metisilin Direncinin Farklı Yöntemlerle Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Tıp Fakültesi Çukurova Üniversitesi, 2009.
22. Rasigade J-P, Vandenesch F. Staphylococcus aureus: a pathogen with still unresolved issues. *Infect Genet Evol*, 2014; 21: 510-4.
23. Ödemiş İ, Köse Ş, Ersan G, Çelik D, Akbulut İ. Hastanede yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2018; 75 (4): 345-352.
24. Tobias FL, Garcia LNN, Kanashiro MM, Medina-Acosta E, Brom-de-Luna JG, Almeida CMCd, et al. Growth inhibition of Staphylococcus aureus and Escherichia coli strains by neutralizing IgY antibodies from ostrich egg yolk. *Braz J Microbiol*, 2012; 43 (2): 544-51.
25. Yegani M, Korver D. Are egg yolk antibodies an alternative to antibiotics. *Worlds Poult Sci J*, 2007; 23 (5): 22-5.
26. Lee E, Sunwoo H, Menninen K, Sim J. In vitro studies of chicken egg yolk antibody (IgY) against Salmonella enteritidis and Salmonella typhimurium. *Poult Sci*, 2002; 81 (5): 632-41.
27. Uma M, Dinesh M, Anjali V, Rechana R, Meenatchisundaram S, Shanmugam V. Purification and characterization of chicken egg yolk antibodies (IgY) against mastitis-causing Klebsiella pneumonia. *Eur J Biol Res*, 2012; 4 (2): 35-9.
28. Kosugi T, Kusano T, Takeno K, Iwanaga H, Kamiyama Y. Development of “Antibacterial Properties and an Antiviral Multifunctional Bio-filter” and the Air Purification System “Living Space Purifier KPD1000”. *FujiFilm Research and Development*, 2009; 57: 18-23
29. LeClaire RD, Hunt RE, Bavari S. Protection against bacterial superantigen staphylococcal enterotoxin B by passive vaccination. *Infect Immun*, 2002; 70 (5): 2278-81.



## Üçüncü basamak bir hastanede iki yıllık HIV pozitifliklerinin değerlendirilmesi

### Evaluation of two-year HIV positivity in a tertiary hospital

Pınar ŞAMLIOĞLU<sup>1</sup>, Yeşer KARACA-DERİCİ<sup>1</sup>, Sevgi YILMAZ-HANCI<sup>1</sup>, Güliz DOĞAN<sup>1</sup>, Arzu BAYRAM<sup>1</sup>, Neval AGUŞ<sup>1</sup>, Nisel YILMAZ<sup>1</sup>, Şükran SABA-ÇOPUR<sup>1</sup>, Sebahat ŞEN-TAŞ<sup>1</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** İnsan immün yetmezlik virusu (HIV) kişiler arası bulaşabilen ve Edinsel İmmün Yetmezlik Sendromu (AIDS)'na neden olabilen bir virustur. Laboratuvar tanısında ELISA yöntemi kullanılmakta ve pozitif sonuçlanan örneklerin Western-Blot (WB) ile doğrulaması yapılmaktadır. Bu çalışmada üçüncü basamak bir hastanede iki yıllık dönemde HIV pozitiflik oranının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gelen toplam 59543 kan örneğinde makro ELISA sistemi ile (Architect-Abbott, USA) HIV antikorları test edilmiştir. Test sonuçları pozitif veya sınırda bulunan hastalardan yeni kan örneği istenmiş ve çalışma her iki örnekle tekrarlanmıştır. Negatif bulunan sonuçlar "negatif" olarak rapor edilmiştir. Pozitif bulunan 117 örnek (%0.2) WB ile doğrulama için İzmir Halk Sağlığı Laboratuvarı'na gönderilmiştir.

**Bulgular:** Retrospektif olarak iki yıllık dönemde incelenen 59543 kan örneğinin 117'sinin (%0.2) anti-HIV testi reaktif bulunmuştur. Bunların WB ile doğrulanması sonucunda 48'i (%0.08) pozitif, 5'i (%0.008) aradeğer, 64'ü (%0.1) negatif olarak bildirilmiştir.

#### ABSTRACT

**Objective:** Human immunodeficiency virus (HIV) is a virus that can be transmitted interpersonally and may causes Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). ELISA method is used in laboratory diagnosis and positive results are confirmed by Western-Blot (WB). The aim of this study was to evaluate the rate of HIV positivity in a two-year period in a tertiary hospital.

**Methods:** 59543 blood samples from the Microbiology Laboratory of İzmir Tepecik Education and Research Hospital were tested by macro ELISA (Architect, Abbott, USA) to detect HIV antibody. The test was repeated with the new blood samples of the patients that have positive or borderline test results. Negative results reported as "negative". 117 positive samples (0.2%) were validated by WB analysis in İzmir Public Health Laboratory.

**Results:** 59543 blood samples were analyzed retrospectively and 117 samples (0.2%) were detected as anti-HIV test reactive. 48 (0.08%) positive, 5 (0.008%) dec value 64 (0.1%) has been reported as negative by verification with WB.

<sup>1</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı



İletişim / Corresponding Author : Pınar ŞAMLIOĞLU

Sağlık Bilimleri Üniv. İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Yenışehir-İzmir-Türkiye  
Tel : +90 542 693 17 95 E-posta / E-mail : pinar.samlioglu@saglik.gov.tr

Geliş Tarihi / Received : 22.03.2018  
Kabul Tarihi / Accepted : 19.01.2019

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2019.70370

Şamlıoğlu P, Karaca-Derici Y, Yılmaz-Hancı S, Doğan G, Bayram A, Ağuş N, Yılmaz N, Saba-Çopur Ş, Şen-Taş S. Üçüncü basamak bir hastanede iki yıllık HIV pozitifliklerinin değerlendirilmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(4): 391-394

**Sonuç:** Son iki yıllık dönemde hastanemiz HIV pozitiflik oranı incelendiğinde artış görülmemiştir. Kişiler arası bulaşın engellenmesine yönelik koruyucu önlemler konusunda toplumsal eğitimlerin düzenli olarak yapılmasının hastalık yayılımının önüne geçilmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Anti HIV, ELISA, Western-Blot, AIDS

**Conclusion:** It is thought that the regular training on preventive measures to prevent transmission of HIV will contribute to the prevention of disease spread.

**Key Words:** Anti HIV, ELISA, Western-Blot, AIDS

## GİRİŞ

HIV (İnsan immün yetmezlik virusu) enfeksiyonu, asemptomatik taşıyıcılık durumundan ölümcül hastalıklara kadar değişen geniş bir klinik tablo ile seyredilen bir enfeksiyondur(1). HIV virusu korunmasız cinsel temas, kontamine kan ürünleri transfüzyonu ve anneden bebeğe vertikal geçiş ile kişiden kişiye bulaşabilmektedir. HIV'e bağlı olarak meydana gelen AIDS'de ise başta pulmoner tüberküloz olmak üzere viral, bakteriyel, parazitik fırsatçı enfeksiyonlar; Kaposi sarkomu veya non-Hodgkin lenfoma gibi kanserler görülebilir (2). UNAIDS (The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS) verilerine göre; 2016 yılı itibarıyla dünya genelinde 36.7 milyon HIV ile enfekte, 1.8 milyon ise yeni vaka bulunmaktadır. Ülkemizde ilk AIDS vakası 1985 yılında görülmüş olup HIV enfeksiyonunun bildiri zorunludur. Kesin tanı laboratuvar bulgularına dayanmaktadır. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Bulaşıcı Hastalıklar Daire Başkanlığı verilerine göre; ilk vakanın görüldüğü 1985 yılından 31 Aralık 2017 tarihine kadar 16201'i HIV ile enfekte, 1651'i AIDS olmak üzere toplam 17884 vaka bildirilmiştir (3).

Bu çalışmada üçüncü basamak bir hastanede iki yıllık dönemde mikrobiyoloji laboratuvarına gelen, kan örneklerinde HIV pozitiflik oranının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 1.09.2015-1.09.2017 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gelen 59543 kan örneğinin anti-HIV sonucu geriye dönük olarak incelenmiştir. Laboratuvara gelen örnekler 4000 devirde 20 dk. santrifüj edilmiştir. Elde edilen serum örneklerinde makro ELISA sistemi ile (Architect-Abbott, USA) HIV antikoru test edilmiştir. Sonuçlar üretici firmanın önerileri doğrultusunda; 1 S/CO altındaki değerlere sahip numuneler negatif, 1 S/CO ve üzerindeki değerlere sahip örnekler pozitif olarak değerlendirilmiştir. Anti-HIV sonucu pozitif veya sınırda olan hastalardan ikinci bir kan örneği istenmiş ve çalışma ilk gelen ve ikinci gelen kanın her ikisi ile tekrarlanmıştır. Negatif bulunan sonuçlar "negatif" olarak rapor edilmiştir.

Her iki serum örneği antiHIV reaktif bulunan 117 (%0.2) serum örneği Western-Blot (WB) ile doğrulama için Türkiye Halk Sağlığı Kurumu İzmir Halk Sağlığı Laboratuvarı'na gönderilmiştir.

## BULGULAR

Geriye dönük olarak iki yıllık dönemde incelenen 59543 serum örneğinin 117'sinin (%0.2) anti-HIV testi tekrarlayan reaktif olarak tespit edilmiştir. Bu 117 örneğin 25'i (%21) kadın, 92'si (%79) erkek hastaya ait idi. Bunların yaşa göre dağılımına bakıldığında 6'sı (%5) çocuk, 111'i (%95) yetişkin hastaydı.

Örnekler Enfeksiyon Hastalıkları, Üroloji, Dahiliye, Kadın Doğum, Ortopedi, Kulak Burun Boğaz, Cerrahi, Aile Hekimliği kliniklerinden gelmiştir. Tekrarlayan reaktivite elde edilen 117 örneğin 87'si (%74) poliklinik, 30'u (%26) servislerden gelmiştir. Bunların WB ile doğrulanması sonucunda 48'i (%0.080) pozitif, 5'i (%0.008) aradeğer, 64'ü (%0.107) negatif olarak bildirilmiştir. Doğrulama sonucu ara değer bulunan hastalardan geldiği servis veya poliklinik aranarak 10 gün sonra yeni bir kan örneği istenmiştir.

Tablo 1'de Anti-HIV reaktif örneklerin cinsiyet ile servis ve poliklinikten geliş oranları, Tablo 2'de Anti-HIV reaktif örneklerin WB sonuçları gösterilmiştir.

### TARTIŞMA

OHIV virusunun sebep olduğu AIDS, Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Amerika Birleşik Devletleri Hastalıkları Önleme ve Kontrol Merkezi (CDC) ve Birleşmiş Milletler HIV/AIDS Ortak Programı (UNAIDS) gibi uluslararası kuruluşların hastalığa karşı koruyucu önlemlerin artırılmasına yönelik çalışmalarına rağmen günümüzde önemini koruyan küresel bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir (4). DSÖ'nün 2017 verilerine göre

2017 yılında Afrika'da 25.7 milyon, Avrupa'da 2.3 milyon, Amerika'da 3.4 milyon, Güneydoğu Asya'da 3.5 milyon HIV ile enfekte kişi bulunmaktadır (5).

Ülkemizde, kan donörleri, preoperatif hastalar, hemodiyaliz tedavisi alan hastalar ve sağlık çalışanlarının mesleki yaralanmaları gibi farklı alanlarda yapılan birçok çalışmada anti-HIV pozitifliği değerlendirilmiştir. HIV enfeksiyonu olgularını saptamaya yönelik yapılan bazı çalışmalarda anti-HIV pozitifliği saptanmadığı bildirilmiştir (6,7,8,9). Anti-HIV pozitifliğini %0,08, %0,05, %0,01 gibi değişen oranda bildiren çalışmalar da vardır (10,11,12). İzmir'den %0,04, Isparta'dan %0.01, Afyon'dan %0.02, Malatya'dan %0.01 Anti-HIV seropozitifliği bildirilmiştir (13,14,15,16). Çalışmamızda bulduğumuz %0.08'lik anti-HIV pozitiflik oranı bu çalışmalarla kıyaslandığında uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

Türkiye'de yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde vakaların çoğunluğu 25-49 yaş aralığındadır ve etkilenen bireylerin yaklaşık %83'ünün erkek olduğu bildirilmektedir(17). Bizim çalışmamızda da anti-HIV reaktif olguların %79'u erkek hastalara aitti.

**Tablo 1.** Anti HIV reaktif örneklerin cinsiyet ile servis ve poliklinikten geliş oranları

CİNSİYET	SAYI	YÜZDE
Kadın	25	21
Erkek	92	79
GELİŞ YERİ		
Servis	30	26
Poliklinik	87	74

**Tablo 2.** Anti HIV reaktif örneklerin WB sonuçları

AntiHIV reaktif	117	
	SAYI	YÜZDE
WB pozitif	48	0.080
WB aradeğer	5	0.008
WB negatif	64	0.107

Dünyadaki çalışmalara bakıldığında özellikle Afrika ülkelerinde oldukça yüksek anti-HIV pozitiflik oranları görülmüştür. Etopya'dan bildirilen iki farklı çalışmada anti-HIV pozitifliği %5.1 ve %3.3 olarak saptanmıştır (18,19). Kamerun'da hemodiyaliz hastalarında yapılan bir çalışmada anti-HIV oranı %13.5 bulunmuştur (20). Bu çalışmada bulduğumuz %0.08 olan anti-HIV pozitifliği ülkemiz adına sevindirici bir sonuçtur.

## SONUÇ

Sonuç olarak çalışmamızda elde ettiğimiz anti-HIV reaktivite değerleri ülkemizden bildirilen sonuçlarla uyumludur. Çalışmamızda saptanan reaktif sonuçların çoğunun poliklinik hastalarına ait olması toplumsal olarak HIV'in kontrol altına alınmasında en önemli yöntemin eğitim ve primer korunma olduğunu düşündürmektedir. Toplum sağlığı açısından enfeksiyonlardan korunmada enfekte olan kişilerin doğru tespit edilmesi, enfeksiyondan koruyucu önlemlere titizlikle uyulması önem taşımaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Demirpençe Ö, Tezcan SI, Değirmen E, Mert D, Gümüş A, Çelen MK. Batman Devlet Hastanesine Başvuran Kişilerde Hepatit ve HIV Serolojisinin Sonuçları. *Viral Hepatit Derg* 2012; 18(1): 6-10.
2. United Nation program on HIV/AIDS. AIDS epidemic update. Switzerland: WHO; 2009.
3. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü HIV/AIDS Tanı Kılavuzu Ankara 2018 p:8
4. Babayiğit MA, Bakır B. HIV enfeksiyonu ve AIDS: Epidemiyoloji ve korunma. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*. 2004; 3(11): 280-290.
5. <http://www.who.int/hiv/en/>
6. Temiz H, Nergiz Ş, Özbek E, ve ark. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi kan merkezine başvuran donörlerden alınan kanların HBsAg, anti-HCV, anti-HIV ve sifiliz yönünden değerlendirilmesi. *Viral Hepatit Derg* 2004; 9: 166-169.
7. Çağlayan EK, Sarı N, Kader Ç ve ark. Polikliniğimize Başvuran Hastalarda Hepatit B, C, HIV Seroprevalansı Ve Hepatit B Aşılama Düzeyi. *Bozok Tıp Derg* 2013; 3(3): 27-30.
8. Tekerekoğlu MS, Aktaş E, Özerol İH, Durmaz R. Onsekiz kırkbeş yaş grubu kadınlarda HBsAg, anti-HCV ve anti-HIV seropozitifliği. *Viral Hepatit Derg* 2004; 9: 46-49.
9. Dinç B, Karabiber N, Yağcı S, Aykut Arca E, Gürbüz A, Tolunay EA. Türkiye Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde kan donörlerinin serolojik profili. *Türk Hijyen Biyol Derg* 2011; 68: 17-22.
10. Tünç N, Eraydın H, Çetinkaya E, Oduncu MK, Toy Ş. Siirt Devlet Hastanesi'ne Başvuran Hastalarda HBsAg, Anti-HBs, Anti-HCV ve Anti-HIV Seroprevalansı. *Viral Hepatit Derg*. 2011; 17: 7-11.
11. İnci A, Okay M, Güven D. Artvin Devlet Hastanesi'ne Başvuran Hastalarda HBsAg, Anti-HBs, Anti-HCV ve Anti-HIV Seroprevalansı. *Viral Hepatit Derg*. 2013; 19(1): 41-44.
12. Çetinkol Y. Kars Devlet Hastanesi'ne Başvuran Hastalarda HBsAg, Anti-HCV ve Anti-HIV Seroprevalansı. *Viral Hepatit Derg*. 2012; 18(2): 76-80.
13. Uzun B, Güngör S, Er H, Pektaş B, Demirci M. İzmir Atatürk Eğitim Araştırma Hastanesine Başvuran Poliklinik Hastalarında HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV Seroprevalansı. *Viral Hepatit Derg* 2013; 19(3): 123-125.
14. Aynalı A, Arıdoğan BC, Temel EN, Çarsancaklı SA, Çetin ES. Bir üniversite hastanesinde çalışılan örneklerde HBs Ag, Anti-HCV, Anti-HIV seropozitiflik oranları. *Genel Tıp Derg* 2016; 26(4): 106-108.
15. Altındış M, Aslan S, Kalaycı R. Kan vericilerde HBs Ag, anti-HCV, anti-HIV ve sifiliz seroprevalansı. *Sakarya MJ* 2011; 1: 22-6.
16. İçel O, Köroğlu M, Demiray T ve ark. Kan Bağışçılarında Tarama Test Sonuçlarının Yıllara Göre Değişimi; On Yıllık Değerlendirme, Malatya. *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi* 2016; 1(3): 1-7.
17. Sucaklı MB. Türkiye'de HIV/AIDS Epidemiyolojisi Ve Kontrol Programı, Klinik HIV/AIDS Sempozyumu, Antakya, 26-27 Kasım 2011.
18. Sharew B, Mulu A, Teka B, Tesfaye T. HIV-Seroprevalence trend among blood donors in North East Ethiopia. *African Health Sciences* 2017; 17(3): 712-718.
19. Abera B, Adem Y, Yimer M, Mulu W, ZenebeY, Mekonnen Z. Community seroprevalence of hepatitis B, C and human immunodeficiency virus in adult population in gojjam zones, Northwest Ethiopia. *Virol. J.* 2017; 14: 21-25.
20. Luma HN, Halle MP, Eloumou SAFB et al. Seroprevalence of human immunodeficiency virus, hepatitis B and C viruses among haemodialysis patients in two newly opened centres in Cameroon. *Pan African Medical Journal*. 2017; 27: 235-243.

# Klinik *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının virülans özellikleri ve epidemiyolojik ilişkisi

## The virulence characteristics and epidemiological relationship of clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates

Nilüfer UZUNBAYIR-AKEL<sup>1</sup>, Yamaç TEKİNTAŞ<sup>2</sup>, Fethiye Ferda YILMAZ<sup>3</sup>, İsmail ÖZTÜRK<sup>2</sup>, Mustafa ÖKEER<sup>3</sup>, Sabire Şöhret AYDEMİR<sup>4</sup>, Fatma Feriha ÇİLLİ<sup>4</sup>, Mine HOŞGÖR-LİMONCU<sup>3</sup>

### ÖZET

**Amaç:** *Pseudomonas aeruginosa* konak savunmasının bozulduğu durumlarda, özellikle sağlık kuruluşlarında ciddi enfeksiyonlara neden olabilen fırsatçı patojendir. Direnç problemine ek olarak bu bakterilerin sahip oldukları farklı virülans özellikleri enfeksiyonun ve tedavinin seyrini değiştirebilmektedir. Bu çalışmada çeşitli kliniklerden izole edilen *P. aeruginosa* izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının, epidemiyolojik ilişkilerinin ve virülans faktörleri özelliklerinin saptanması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Bu çalışma Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nin farklı kliniklerinden izole edilen 83 *P. aeruginosa* izolatı ile gerçekleştirildi. Etken olan izolatların antibiyotik duyarlılıkları VITEK 2 Compact® otomatize sistemiyle ve klonal ilişkileri "Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (ERIC-PZR)" ile araştırıldı. Her bir klondan seçilen temsilcilerin virülans faktörlerinin belirlenebilmesi için fenotipik testler yapıldı. Elastaz aktivitesinin araştırılmasında "Elastin Congo Red" ölçüm yöntemi kullanılırken, Proteaz, DNaz, Lipaz, Siderofor ve Hareket (Twitching) aktivitelerinin fenotipik olarak belirlenmesi amacıyla uygun yöntemler uygulandı. İzolatların biyofilm

### ABSTRACT

**Objective:** *Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic pathogen that can cause serious infections, especially in health care settings where host defense is impaired. In addition to resistance problem, the different virulence characteristics of these bacteria can change the course of infection and cure. In this study, it was aimed to determine antibiotic susceptibilities, epidemiological relations and virulence factors of clinical *P. aeruginosa* isolates.

**Methods:** This study was performed, a total of 83 *P. aeruginosa* isolated from different clinical samples of Ege University Faculty of Medicine Hospital. Antibiotic susceptibilities of isolates were investigated by the VITEK 2 Compact® automated system and epidemiological relations of isolates determined via "Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-Polymerase Chain Reaction (ERIC-PCR)". Phenotypic tests were performed to determine the virulence factors of the selected representatives from each clone. While the "Elastin Congo Red" method was used for the investigation of elastase activity, appropriate methods applied for Protease, DNase, Lipase, Siderophore and Twitching activities to the detect virulence properties phenotypically. The biofilm production of isolates was

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İzmir

<sup>2</sup>İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

<sup>4</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir



İletişim / Corresponding Author : Mine HOŞGÖR-LİMONCU

Ege Üni. Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji AD. Bornova 35100 İzmir - Türkiye  
Tel : +90 532 568 19 81 E-posta / E-mail : minehosgorlimoncu@yahoo.com.tr

Geliş Tarihi / Received : 27.11.2018  
Kabul Tarihi / Accepted : 23.01.2019

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2019.68235

Uzunbayır-Akel N, Tekintaş Y, Yılmaz FF, Öztürk İ, Okeer M, Aydemir SŞ, Çilli FF, Hoşgör-Limoncu M. Klinik *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının virülans özellikleri ve epidemiyolojik ilişkisi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(4): 395-404

üretimleri kristal viyole metoduyla ve biyofilme ilişkili olduğu düşünülen çoğunluğu algılama (ÇA) genleri ise PZR yöntemiyle araştırıldı.

**Bulgular:** Antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarına göre en yüksek direnç imipeneme karşı (%43,4), en düşük direnç ise amikasinine karşı (%14,5) gözlemlendi. İzolatların ERIC-PZR sonuçlarına göre 19 ilişkisiz klon içerisinde yer aldıkları saptandı. Her bir klonu temsilen seçilen izolatların tamamında siderofor ve elastaz üretimi gözlemlendi, proteaz, lipaz ve twitching motilitesi sırasıyla 5, 14 ve 15 izolatta belirlenirken, hiçbir kökende DNaz üretimi saptanmadı. 19 temsilci izolatın dokuzunun güçlü biyofilm ürettiği ve lasI, lasR, rhIR genlerini sırasıyla 17, 18, 13 izolatta, rhII geninin ise tüm izolatlarda pozitif olduğu belirlendi.

**Sonuç:** Bulgular değerlendirildiğinde, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde farklı antibiyotik direnç profilleri olan *P. aeruginosa* izolatları saptandı. Bu dirençli izolatların epidemiyolojik olarak ilişkisiz klonlarda yer almaları, genotipik olarak farklı özelliklere sahip izolatların kliniklerde dolaşımında olduklarını göstermektedir. Patogeneze katkıda bulunabilecek pek çok virülans faktörünü de içeren bu izolatlarda özellikle biyofilm üretiminin yaygın olduğu dikkat çekmektedir. Bu durum hem tedavinin daha zor hale gelmesini, hem de sağlık kuruluşlarında pek çok farklı yüzeyde kolonize olabilmelerine katkıda bulduklarını düşündürmektedir. Ülkemizde ve bölgemizde yapılacak daha kapsamlı çalışmalarla *P. aeruginosa* bakterilerinin direnç durumları ve virülans faktörlerinin, enfeksiyonun şiddetine olan etkileri ortaya konulabilecektir.

**Anahtar Kelimeler:** *Pseudomonas aeruginosa*, ERIC-PZR, virülans faktörleri, biyofilm

investigated by crystal violet method, and the quorum sensing (QS) genes thought to be related to biofilm were determined by PCR method.

**Results:** According to results of antibiotic susceptibility test, the highest resistance was observed against imipenem (43,4%) and the lowest resistance was observed against amikacin (14,5%). Isolates were found in 19 unrelated clones according to ERIC-PZR results. Siderophore and elastase production were observed in all of the representative isolates. Protease, lipase and twitching motility were determined at 5, 14 and 15 isolates respectively, no DNase production was detected. Nine of the 19 representative isolates produced strong biofilms, and the lasI, lasR, rhIR genes were identified in 17, 18, 13 isolates respectively and the rhII gene was found in all strains.

**Conclusion:** When the data were evaluated, different antibiotic resistant *P. aeruginosa* isolates which have different resistance profiles were detected at Ege University Faculty of Medicine Hospital. The inclusion of these resistant isolates in epidemiologically unrelated clones suggests that isolates with genotypically different properties are circulating in the clinics. Despite the many virulence factors that can contribute to pathogenesis, it is noteworthy that biofilm production is particularly prevalent in these isolates. This situation has meant that treatment becomes more difficult, as well as being able to colonize on many different surfaces in health care facilities. More extensive studies in both our country and our region could show the resistance profile of *P. aeruginosa* bacteria and the effects of virulence factors on the severity of infection.

**Key Words:** *Pseudomonas aeruginosa*, ERIC-PCR, virulence factors, biofilm

## GİRİŞ

*Pseudomonas aeruginosa* hastane enfeksiyonlarına neden olan ve pek çok moleküle dirençli Gram negatif non-fermentatif bakteridir (1). Başta yoğun bakım

olmak üzere pek çok farklı klinikten izole edilen bu bakteri, hastane kökenli enfeksiyonların %10-15'inden sorumludur. Sadece kliniklerde değil hastanenin

genel hijyeni açısından da oldukça önemli sonuçlar doğuran bu bakterinin, su kaynaklarını kontamine ederek salgınlara neden olduğu bilinmektedir (2,3).

*Pseudomonas aeruginosa* patogeneğinde hücre dışı pek çok faktör görev almaktadır. Bu sistemler bakterinin hareketini artırarak (twitching motilitesi) besin maddelerine daha kolay ulaşmasını sağlayabildiği gibi, çeşitli maddeleri parçalayabilen enzimler (Elastaz, Proteaz, DNaz) aracılığıyla dokulara daha kolay penetre olabilmelerini veya kolonize ettikleri dokuda daha fazla hasara neden olabilmelerini sağlamaktadır. Bununla birlikte bakteriye ait en önemli virülans faktörü biyofilm üretimidir (4).

Hemen hemen tüm virülans faktörleri gibi biyofilm üretimi de, hücre yoğunluğuna bağlı mekanizma olan çoğunluğu algılama (ÇA “quorum sensing”) sistemine bağlı olarak indüklenmektedir. ÇA sisteminin yardımıyla bakterilerin sayıları belirli seviyelere ulaştığında, bulunduğu sisteme yapışık bir ekzopolisakkarit yapının içerisine gömülerek üremeye başlarlar. Bu sayede bakteriler, etraflarını çevreleyen koruyucu duvar oluşturarak çevre koşullarına, dezenfektanlara ve antimikrobiyalere daha dirençli hale gelirler. *Pseudomonas aeruginosa*, virülans faktörlerinin eksprese olmasını sağlayan *las* ve *rhl* genleri olmak üzere iki tane ÇA sistemine sahiptir ve enfeksiyonlarının şiddeti, virülans faktörlerinin üretimine bağlıdır (5,6).

Bu çalışmada Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda izole edilmiş ve klonal ilişkisiz olduğu belirlenen *P. aeruginosa* izolatlarında antimikrobiyal duyarlılık profillerinin, virülans faktörlerinin, varlığının ve ÇA genleriyle olan

ilişkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### İzolatların seçilimi:

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bakteriyoloji Laboratuvarı’nda farklı kliniklerden Ekim 2014 - Ocak 2015 tarih aralığında izole edilmiş 181 *P. aeruginosa* kökeni VITEK MS otomatize sistemi ile tür tayini yapılarak tanımlandı. Bu izolatlar içerisinde etken olduğu belirlenen 83 izolat çalışmaya dahil edildi (Tablo 1). Bakteriler çalışılncaya kadar gliserinli buyyon besiyerinde -80°C’de stoklandı. Kontrol kökeni olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 kullanıldı.

### Antimikrobiyal duyarlılıkları:

Etken olduğu saptanan izolatlarla ait antibiyotik duyarlılıkları VITEK 2 Compact® otomatize sistemi kullanılarak araştırıldı. Otomatize sistemde elde edilen sonuçlar “Clinical Laboratory Standarts Institute (CLSI)” kriterleri doğrultusunda duyarlı, orta derece duyarlı ve dirençli olarak sınıflandırıldı (7).

### Epidemiyolojik tiplendirme:

İzolatların epidemiyolojik ilişkisi “Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (ERIC-PZR)” ile Tablo 2’de gösterilmiş olan primerler aracılığıyla saptandı. Elde edilen son ürünler %1,5 agaroz içeren jel içerisindeki kuyucuklara yüklenerek elektriksel alana tabi tutuldu. Jel UV ışık altında Fusion FX7 görüntüleme (Vilberlourmat) cihazında görüntülendi. Elde edilen

Tablo 1. Etken olduğu belirlenen izolatların materyal türleri

Materyal	Balgam	Kan-kateter ucu	Doku-biyopsi	Yara Sürüntüsü	İdrar	Kornea sürüntüsü	Kist sıvısı	Dren sıvısı	Batın-pomksiyon sıvısı
Sayı (83)	36	17	11	11	4	1	1	1	1
(%)	(43,4)	(20,4)	(13,3)	(13,3)	(4,8)	(1,2)	(1,2)	(1,2)	(1,2)

Tablo 2. Kullanılan primer dizileri

Gen	Primer Dizi (5'→3')	Kaynak
ERIC-1R	ATG TAA GCT CCT GGG GAT TCA C	(8)
ERIC-2	AAG TAA GTG ACT GGG GTG AGC G	(8)
<i>lasI-1</i>	ATG ATC GTA CAA ATT GGT CGG C	(9)
<i>lasI-2</i>	GTC ATG AAA CCG CCA GTC G	(9)
<i>lasR-1</i>	ATG GCC TTG GTT GAC GGT T	(9)
<i>lasR-2</i>	GCA AGA TCA GAG AGT AAT AAG ACC CA	(9)
<i>rhlI-1</i>	CTT GGT CAT GAT CGA ATT GCT C	(9)
<i>rhlI-2</i>	ACG GCT GAC GAC CTC ACA C	(9)
<i>rhlR-1</i>	CTT GGT CAT GAT CGA ATT GCT C	(9)
<i>rhlR-2</i>	GCT TCA GAT GAG GCC CAG C	(9)

bant paternleri baz alınarak %80 benzerlik katsayısına göre MEGA 4 programı aracılığıyla dendrogram çizildi. Aynı klonlarda yer alan bakteriler genotipik olarak aynı özelliği göstereceği için her bir klondan temsilci seçilerek çalışmalara devam edildi.

### Virülans faktörlerinin fenotipik olarak saptanması:

#### DNaz tespiti:

DNaz test agar plaklarına çizgi ekim yapılarak 35°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda plak yüzeyi 1 N HCl ile yıkandı. İzolatların üredikleri alanın etrafında temiz zon oluşumu DNaz varlığı olarak değerlendirildi (10).

#### Elastaz tespiti:

İzolatların Luria Bertani (LB) sıvı besiyerinde 37°C'de 16 saat inkübasyonunu takiben 4°C'de 15.000 rpm hızda 10 dk. santrifüj uygulandı. Elastin Congo red (ECR) tamponu hazırlandı (20 ml Trisbuffer (100 mMTris + 1 mM CaCl<sub>2</sub> = pH:7,5) + 0,44 gECR).

100 µl bakteri süpernatantı ile 900 µl ECR tamponu ependorfa alınıp karıştırıldı. 37°C'de 3 saat 250 rpm hızda su banyosunda inkübasyona bırakıldıktan sonra çözülme ECR 4°C'de 11.600 rpm hızda 14 dk. santrifüj uygulanarak uzaklaştırıldı. 96 kuyucuklu mikropklara 3 tekrarlı olacak şekilde aktarılan absorbe edilmiş süpernatantlar 495 nanometre (nm)'de ölçüldü (11).

#### Proteaz tespiti:

Proteaz testi için hazırlanan besiyerlerine delikler açıldı. 1 McFarland bulanıklığına ayarlı bakteri süspansiyonundan 50 µl besiyerine ekilip, 35°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda plakta temiz bir zon görülmesi pozitif sonuç olarak kabul edildi (10).

#### Lipaz tespiti:

Lipaz testi için hazırlanan besiyerine çizgi ekim yapıldı. 35°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda koloni etrafında puslanma görülmesi pozitif sonuç olarak değerlendirildi (12).



**Twicthing motilitesinin tespiti:**

Bakteri kökenleri %1'lik LB agar plaklarına delik açılarak inoküle edildi. 35°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı ve süre sonunda koloni çapları ölçüldü. 10 mm ve üzeri değerler pozitif sonuç olarak kabul edildi (13).

**Siderofor tespiti:**

"Chrome Azurol S (CAS)" agar besiyerine çizgi ekim yapıldı. 35°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda mavi olan besiyerinde turuncu renkli üreme görülmesi pozitif sonuç olarak kabul edildi (14).

**Pigment tespiti:**

Mueller Hinton Agar (MHA) besiyerine kökenler ekilip 35°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda plaklar görsel olarak değerlendirilerek pigment varlığı saptandı (15).

**Biyofilm üretimini belirlenmesi:**

Biyofilm üretiminin belirlenmesi amacıyla Stepanovic ve ark. (16) tarafından tanımlanan kristal viyole metodu kullanıldı. Deney sonunda mikropilaya kuyucuklarındaki absorbans değerleri mikropilaya okuyucu spektrofotometre ("Varioskan

Flash, ThermoScientific") ile 570 nm dalga boyunda ölçülerek değerlendirildi. Absorbans değerlerine göre, biyofilm üretimi biyofilm yok, zayıf biyofilm, orta düzey biyofilm ve güçlü biyofilm olarak sınıflandırıldı (16,17).

**Çoğunluğu algılama (ÇA, "Quorum sensing") genlerinin tespiti:**

Çoğunluğu algılama genleri; *lasI*, *lasR*, *rhII* ve *rhIR* PZR yöntemi kullanılarak Tablo 2'de belirtilen primerler aracılığıyla saptandı. Elde edilen son ürünler %1,5 agaroz içeren jel içerisindeki kuyucuklara yüklenerek elektriksel alana tabi tutuldu. Jel UV ışık altında Fusion FX7 görüntüleme cihazında görüntüldü.

**BULGULAR**

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda farklı kliniklerden etken olarak izole edilen 83 *P. aeruginosa* izolatının antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarına göre, amikasin, sefepim, siprofloksasin ve imipenem direnç oranları sırasıyla %14,5, %22,9, %26,5 ve %43,4 olarak belirlendi (Tablo 3).

**Tablo 3.** Kökenlerin Antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçları

Duyarlılık	AK	CN	MEM	TAZ	FEP	CAZ	CIP	IMP
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Duyarlı (S)	83,1	80,7	63,9	72,3	63,8	74,7	72,3	53
Orta Derece Duyarlı (I)	2,4	3,6	7,2	3,6	13,3	8,4	1,2	3,6
Dirençli (R)	14,5	15,7	28,9	24,1	22,9	16,9	26,5	43,4

AK: Amikasin, CN: Gentamisin, MEM: Meropenem, TAZ: Piperasilin-Tazobaktam, FEP: Sefepim, CAZ: Seftazidim, CIP: Siprofloksasin, IMP: İmipenem

Seksen üç izolatın ERIC-PZR sonuçları incelendiğinde, genotipik olarak ilişkisiz 19 klonda yer aldıkları belirlendi. Her bir klondan 24, 35, 50, 67, 70, 72, 74, 79, 83, 85, 100, 111, 127, 135, 144, 160, 164, 171, 177 numaralı izolatlar 19 epidemiyolojik gruba ait temsilciler olarak seçildi. Bu izolatların virülans özellikleri incelendiğinde, elastaz ve siderofor üretimi tüm kökenlerde saptandı. Bakterilerin “twitching” (%78,9), lipaz (%73,7) ve proteaz (%26,3) ürettikleri belirlenirken, DNaz üretimi yapan hiçbir

kökene rastlanmadı. Virülans özellikleri Tablo 4’de özetlenmiştir.

Kristal viyole yöntemine göre belirlenen biyofilm üretme kapasitesi sonuçlarına göre dokuz izolatın güçlü biyofilm üretimi yaptığı tespit edildi. Çalışmaya alınan bakterilerde biyofilm ile ilişkili olabileceği düşünülen ÇA genleri *lasI*, *lasR*, *rhII* sırasıyla 17, 18, 13 izolatta saptanırken, *rhII*’nın tüm kökenlerde pozitif olduğu belirlendi.

**Tablo 4.** Temsilci olarak seçilen izolatların virülans özellikleri

KN	LP	TW	PM	BF	EL	PR	DNaz	SD	<i>lasI</i>	<i>lasR</i>	<i>rhII</i>	<i>rhIR</i>
24	(+)	(+)	PV	Z	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
35	(+)	(-)	PV	G	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
50	(-)	(-)	PV	G	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
67	(-)	(+)	PV	G	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
70	(+)	(-)	PV	G	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
72	(+)	(+)	PV	G	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
74	(+)	(+)	PV	G	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
79	(+)	(+)	PS	Z	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
83	(-)	(+)	PS	G	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
85	(+)	(+)	PV	Y	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
100	(+)	(+)	PV	O	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
111	(+)	(+)	Y	O	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
127	(+)	(+)	PV	O	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
135	(-)	(+)	PS	O	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
144	(+)	(-)	PS	O	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
160	(+)	(+)	Y	O	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
164	(+)	(+)	PV	G	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
171	(-)	(+)	PM	Z	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
177	(+)	(+)	Yok	G	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

KN: köken no, LP: lipaz, TW: twitching, PM: pigment, BF: biyofilm, EL: elastaz, PR: proteaz, SD: siderofor, PV: piyoverdin, PS: piyosiyinin, PM: piyomelanin, Y: yok, Z: zayıf, O: orta düzey, G: güçlü

## TARTIŞMA

*P. aeruginosa* gerek yapısal özellikleri gerekse hastane ortamındaki yoğun antibiyotik stresinin etkisiyle hızlıca direnç geliştiren bir bakteridir. Yurt içinde ve dışında antimikrobiyal duyarlılıkları incelendiğinde direnç oranlarının yıllara ve hatta bölgelere göre değişik dağılımlar gösterdiği dikkati çekmektedir (18). Bu durum farklı genetik atadan gelen klonların dolaşımında olabileceğini düşündürmüş ve mümkün olduğunca her hastanenin kendi direnç paternini belirleyerek, antimikrobiyal kullanım politikalarını buna göre güncellemesi gerektiğini ortaya koymuştur. Bu çalışma kapsamındaki izolatların epidemiyolojik tiplendirme sonuçları yorumlandığında 83 izolatın 19 ayrı klonda yer aldığı dikkat çekmektedir. Tespit edilen 19 klon içerisinde en yüksek sayıda izolat içeren grupta 25 izolat (toplam izolatların % 30,1'i) bulunmakla birlikte diğer klonların temsil oranları %12 ve altında kalmaktadır. Bu durum hastanede etken olarak dolaşımda olan *P. aeruginosa* bakterilerinin pek çok farklı genetik atadan geldiği fikrini destekler niteliktedir.

Direnç durumu özelinde göze alındığında karbapenem direncinin öne çıktığı görülmektedir. Çalışmamızda imipenem (%43) en yüksek direnç oranlarının görüldüğü antimikrobiyal olarak belirlenmiştir. Bir başka karbapenem olan meropenem olan direnç ise imipenem oranla görece daha düşük seviyelerde seyretmektedir. Çalışmamız dahilinde elde edilen bu veri bir başka dikkat çekici noktadır. Benzer gruplara ortak mekanizmalar ile direnç gözükeceği bilinmekle beraber çalışmaya alınan izolatlarda gözüken bu farklılığın oprD (outer membran protein) porin aracılı direnç mekanizmasının varlığı nedeniyle oluşabileceği şeklinde açıklanmıştır. Porin kaybına bağlı olarak oluşan direnç de özellikle imipenem molekülünün sahip olduğu kimyasal yapı nedeniyle daha yüksek oranda etkilendiği bilinmektedir (19). Yurt içinde ve yurt dışında yapılan farklı çalışmalarda da yüksek karbapenem direnci saptanmıştır (18,20). Karbapenemler özellikle

Gram-negatif basillerin tedavisinde beta-laktamları etkileyen direnç mekanizmalarının bir kısmından etkilenmemeleri nedeniyle son savunma hattı olarak adlandırılırlar. Karbapenem dirençli izolatların daha yüksek mortalite oranlarıyla ilişkilendirildiği düşünüldüğünde çalışmamızdan elde edilen verinin oldukça dikkat çekici olduğunu düşünmekteyiz (21). Sadece ülkemizde değil dünya çapında kaygı veren bu duruma karşı aktif süreyans, enfeksiyon kontrol uygulamaları ve akılcı antibiyotik kullanımı gibi maddeler en etkin önleyici uygulamalar olarak öne çıkmaktadır (22,23).

Hastanemizde dolaşımda olan *P. aeruginosa* bakterilerinde aminoglikozid türevlerine olan direncin diğer gruplara oranla daha düşük olduğu saptanmıştır. Son yıllarda yapılmış pek çok farklı çalışmada aminoglikozid direnci görece düşük olarak seyretmektedir (24,25). Antibiyotik reçeteleme eğiliminin bu noktada etkin olan ana faktör olarak ortaya çıkması muhtemeldir (26). Giderek gelişen farmasötik sektörün ortaya koyduğu yeni moleküllerin tercihinin oldukça yüksek toksisite ve yan etki problemlerine sahip olan bu grubun reçetelenme eğiliminin azalmış olmasının bu moleküller özelinde antibiyotik stresini azalttığı düşünülebilir. Yine de toksisite ve yan etkilerine rağmen özellikle beta-laktam gruplarıyla kombine kullanılabilme avantajına sahip olmaları ve belli düzeyde direnç azalması tedavide bir seçenek olarak unutulmaması gerektiğini hatırlatmaktadır.

Nozokomiyal *Pseudomonas* enfeksiyonlarının büyük bir kısmı medikal cihazların kullanımıyla ilişkilendirilmiştir. Bu cihazların yüzeyine sıkıca tutunmasını sağlayan biyofilm yapısı, enfeksiyonların daha sık görülmelerine ve daha inatçı hal almasına neden olmaktadır. Ayrıca çeşitli yüzeylerde kolonizasyonu kolaylaştıran bu sistemin konak immün yanıt hücrelerinden kaçışta, antibiyotik maruziyetini engelleme gibi noktalarda etkili olduğu bilinmektedir (27). On dokuz temsilci izolatın biyofilm üretme kapasitelerine bakıldığında 9'unun güçlü ve 6'sının orta düzey olmak üzere 15 izolatın (toplamda %78,9)

biyofilm ürettikleri düşünüldüğünde biyofilm oluşturma kapasitelerinin yüksek olması beklenen bir sonuçtur (15). Biyofilm oluşumu için hücrelerin bir grup halinde hareket edebilmesi önemli bir basamaktır. Bakteriler bu durumu yönetebilmek amacıyla ÇA adı verilen bir sistemi kullanırlar. Bu sistemde küçük difüze olabilen açıl homoserin lakton (AHL) moleküllerinin hücre içi konsantrasyonlarının değişmesi, transkripsiyonal regülasyonu sağlayarak bakterilerin birbirlerinin durumundan haberdar olmasını ve grup halinde davranmalarını sağlamaktadır (28). *Pseudomonas aeruginosa*'da las ve rhl sistemi olmak üzere iki temel ÇA sistemi bulunmaktadır (29). Lasl geni biyofilmin olduğu ilk basamakta görev alan ve adeta sistemi başlatan orkestra şefi görevindedir. Lasl ile etkileşen AHL diğer genlerin regülasyonunu sağlayarak ÇA sistemini başlatır. Bu çalışmada 19 izolatta, bu geni bulundurmayan iki kökenden biri zayıf biyofilm üretirken diğerinin biyofilm üretmediği saptanmıştır. Dolayısıyla bu geni bulundurmayan izolatların ÇA davranışında yetersizlik görülebileceği ve buna bağlı olarak biyofilm üretiminin düşük seviyelerde olması beklenen bir sonuç haline gelmektedir. Bazı çalışmalarda lasl'nın çevre koşullarından etkilendiği ve bu durumun genin varlığı söz konusu olsa dahi üretilecek AHL miktarında değişiklik meydana getirerek biyofilm üretiminde azalma gözlemlenebileceği ortaya konulmuştur (28).

*Pseudomonas* türleri farklı pigment molekülleri oluşturabilmektedir. Virülans ve yaşamsal fonksiyonlarda çeşitli görevleri olduğu bilinen bu moleküllerin üretimi ÇA sistemi üzerinden yönetilebilmektedir. Örneğin rhlR' nin piyosiyanın pigmentinin ana indükleyicisi olduğu belirlenmiştir (30). Bizim çalışmamızda pigment üretimleri açısından değerlendirme yapıldığında rhlR genini içermeyen izolatlarda piyosiyanın pigmentinin bulunmadığı göze çarpmaktadır. Bu veri rhlR' nin piyosiyanın ile ilişkilendirildiği pek çok çalışmayı destekler niteliktedir. Aynı zamanda bir siderofor olan piyoverdin bizim çalışmamızda en yüksek oranda (% 57,9) tespit edilen pigment olarak göze

çarpmaktadır. Çoğunluğu algılama genlerindeki belli mutasyonların piyoverdin üretimine neden olduğu düşünülmektedir. Bu molekülün varlığının fotosensitizerlere olan dayanıklılığı artırdığı düşünüldüğü için, son dönemlerde alternatif tedavi olarak öne çıkmaya başlayan fotodinamik tedavi açısından değerlendirilmesinin önemli veriler ortaya koyabileceğini düşünmekteyiz (31).

*Pseudomonas aeruginosa* patojenitesi hücre dışına salınan pek çok farklı enzim aracılığıyla düzenlenmektedir. Elastaz, proteaz, lipaz ve DNaz gibi moleküllerin bu noktada etkin olan faktörlerden oldukları bilinmektedir (32). Özellikle akciğerdeki elastin dokusuna zarar veren, lipit yapıları çözen veya fibrini eriten enzimler enfeksiyonun yayılımını ve ciddiyetini etkilemektedirler. Georgescu ve ark. (33) çalışmalarında, lipaz üretiminin oranını %83, DNaz üretimini ise çalışmada prevalansı en düşük olan faktör olarak %16 oranında belirlemiştir. Genellikle yara bölgesinden yapılan izolasyonlarda artmış DNaz miktarları çalışmalarla gösterilmiş olsa da (34) bizim izolatlarımızda DNaz üretimi saptanmamıştır. Elastaz, proteaz, siderofor gibi virülans faktörlerinin genel olarak yüksek oranlarda üretildiğini gösteren çalışmaların bulunması bizim çalışmamıza ait verileri desteklemektedir (35). Bu noktada farklılıkların, izolatların fazla sayıda klinik örnekten izole edilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bakterinin enfeksiyon oluşturduğu bölgeye göre farklı sistemlere ihtiyaç duyduğu bilinmektedir (34).

*Pseudomonas aeruginosa* gerek farklı direnç mekanizmalarıyla, gerekse pek çok virülans faktörünün yardımıyla tedavisi zor inatçı enfeksiyonlara neden olmaktadır. Sahip olduğu antimikrobiyal direnç gerek aktarılabilen mekanizmalarla, gerekse tercih edilen antimikrobiallerin oluşturduğu stres nedeniyle değişiklikler gösterebilmektedir. Bu direnç paternlerinin ve durumlarının her bölgede, hatta mümkünse her sağlık kuruluşu tarafından sıkı takibi yapılarak antimikrobiyal kullanım politikalarının buna göre şekillendirilmesi gerekliliği öne çıkmaktadır. Enfeksiyonun seyrini ve ciddiyetini değiştirme

potansiyeli olan virülans faktörlerinin sıklığının ve bu mekanizmaların daha detaylı çalışmalarla incelenmesinin, gen mutasyonlarının bu noktalardaki etkilerinin saptanmasının ve bu mekanizmalar

bütününü hedef alabilecek olası farklı ilaç molekül adaylarının ortaya konulmasının faydalı olacağını düşünmekteyiz.

## TEŞEKKÜR

Bu proje Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 14/ECZ/041 proje numarası ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- Özünel L, Boyacıoğlu Zİ, Güreşer AS, Taylan-Özkan A. Çorum Eğitim ve Araştırma Hastanesinde derin trekeal aspirat örneklerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarının antimikrobiyal duyarlılık paternlerinin değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg.* 2014;71(2):81-8.
- Varin A, Valot B, Cholley P, Morel C, Thouverez M, Hocquet D, et al. High prevalence and moderate diversity of *Pseudomonas aeruginosa* in the U-bends of high-risk units in hospital. *Int J Hyg Environ Health.* 2017;220(5):880-5.
- Witney AA, Gould KA, Pope CF, Bolt F, Stoker NG, Cubbon MD, et al. Genome sequencing and characterization of an extensively drug-resistant sequence type 111 serotype O12 hospital outbreak strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(10):O609-18.
- Karatuna O, Yağcı A. *Pseudomonas aeruginosa*'da virülans faktörleri ve quorum sensing. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 2008;38(1):42-51.
- Mataracı E, Gerceker AA. Çeşitli dezenfektanların minimum bakterisidal konsantrasyonlarının *Pseudomonas aeruginosa*'nın biyofilm kültürlerine karşı araştırılması. *Ankem Derg.* 2012;25(4):209-14.
- Koziroğ A, Otłowska A, Brycki B. Viability, Enzymatic and Protein Profiles of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm and Planktonic Cells after Monomeric/Gemini Surfactant Treatment. *Molecules.* 2018;1-13.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. Vol. 33, Clinical and Laboratory Standards Institute. 2013. 70-71 p.
- Dorneles EMS, Santana JA, Ribeiro D, Dorella FA, Guimarães AS, Moawad MS, et al. Evaluation of ERIC-PCR as genotyping method for *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates. *PLoS One.* 2014;9(6):e98758.
- Schaber JA, Carty NL, McDonald NA, Graham ED, Cheluvappa R, Griswold JA, et al. Analysis of quorum sensing-deficient clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Med Microbiol.* 2004;53(9):841-53.
- Finlayson EA, Brown PD. Comparison of Antibiotic Resistance and Virulence Factors in Pigmented and Non-pigmented *Pseudomonas aeruginosa*. *West Indian Med J.* 2011;60(1):24-32.
- Wang H, Tu F, Gui Z, Lu X, Chu W. Antibiotic Resistance Profiles and Quorum Sensing-Dependent Virulence Factors in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Indian J Microbiol.* 2013;53(2):163-7.
- Muhsin TM, Aubaid AH, Al-Duboon AH. Extracellular enzyme activities of dermatophytes and yeast isolates on solid media. *Mycoses.* 1997;40(11-12):465-9.
- Eijkelkamp BA, Stroehrer UH, Hassan KA, Papadimitriou MS, Paulsen IT, Brown MH. Adherence and motility characteristics of clinical *Acinetobacter baumannii* isolates. *FEMS Microbiol Lett.* 2011;323(1):44-51.
- Louden BC, Haarmann D, Lynne AM. Use of Blue Agar CAS Assay for Siderophore Detection. *J Microbiol Biol Educ.* 2011;12(1):51-3.
- Lima JL da C, Alves LR, Jacomé PRL de A, Bezerra Neto JP, Maciel MAV, Morais MMC de. Biofilm production by clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and structural changes in LasR protein of isolates non biofilm-producing. *Brazilian J Infect Dis.* 2018;22(2):129-36.

16. Stepanović S, Vuković D, Dakić I, Savić B, Švabić-Vlahović M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J Microbiol Methods*. 2000;40(2):175-9.
17. Stepanovic S, Vukovic D, Hola V, Bonaventura G Di, Djukic' S, Cirkovic' I, et al. Quantification of Biofilm in Microtiter Plates: Overview of Testing Conditions and Practical Recommendations for Assessment of Biofilm Production by Staphylococci. *Apmis*. 2007;115(3):891-9.
18. Öztürk C, Albayrak HT, Altinöz A, Ankaralı H. Pseudomonas aeruginosa Suşlarında Antibiyotiklere Direnç ve Beta-Laktamaz Oranları. *ANKEM Derg*. 2010;24(3):117-23.
19. Livermore DM. Leading article Of Pseudomonas, porins, pumps and carbapenems. *J Antimicrob Chemother*. 2001;47:247-50.
20. Rostami S, Farajzadeh SA, Shoja S, Farahani A, Tabatabaiefar MA, Jolodar A, et al. Investigating of four main carbapenem-resistance mechanisms in high-level carbapenem resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients. *J Chinese Med Assoc*. 2018;81(2):127-32.
21. Liu Q, Li X, Li W, Du X, He JQ, Tao C, et al. Influence of carbapenem resistance on mortality of patients with Pseudomonas aeruginosa infection: A meta-analysis. *Sci Rep*. 2015;5(March):1-10.
22. Metan G, Akova M. Reducing the impact of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae on vulnerable patient groups: What can be done? *Curr Opin Infect Dis*. 2016;29(6):555-60.
23. Plüss-Suard C, Pannatier A, Kronenberg A, Mühlemann K, Zanetti G. Impact of antibiotic use on carbapenem resistance in Pseudomonas aeruginosa: Is there a role for antibiotic diversity? *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(4):1709-13.
24. Juayang AC, Lim JPT, Bonifacio AF V, Lambot AVL, Millan SM, Sevilla VZJN, et al. Five-Year Antimicrobial Susceptibility of Pseudomonas aeruginosa from a Local Tertiary Hospital in Bacolod City, Philippines. *Trop Med Infect Dis*. 2017;2(3):28.
25. Lucca F, Guarnieri M, Ros M, Muffato G, Rigoli R, Da Dalt L. Antibiotic resistance evolution of Pseudomonas aeruginosa in cystic fibrosis patients (2010-2013). *Clin Respir J*. 2018;12:2189-96.
26. Poole K. Aminoglycoside Resistance in Pseudomonas aeruginosa. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(2):479-87.
27. Lambert PA. Mechanism of antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa. *J R Soc Med*. 2002;95(41):S22-26.
28. Smith RS, Iglewski BH. Pseudomonas aeruginosa quorum sensing as a potential antimicrobial target. *J Clin Invest*. 2003;112(10):1460-5.
29. de Kievit TR. Quorum sensing in Pseudomonas aeruginosa biofilms. *Environ Microbiol*. 2009;11(2):279-88.
30. Mukherjee S, Moustafa D, Smith CD, Goldberg JB, Bassler BL. The RhlR quorum-sensing receptor controls Pseudomonas aeruginosa pathogenesis and biofilm development independently of its canonical homoserine lactone autoinducer. *PLoS Pathog*. 2017;13(7):1-25.
31. Orlandi VT, Bolognese F, Chiodaroli L, Tolker-Nielsen T, Barbieri P. Pigments influence the tolerance of Pseudomonas aeruginosa PAO1 to photodynamically induced oxidative stress. *Microbiology*. 2015;161(12):2298-309.
32. Morales E, González-Valdez A, Servin-González L, Sobeñon-Chavez G. Pseudomonas aeruginosa quorum-sensing response in the absence of functional LasR and LasI proteins: The case of strain 148, a virulent dolphin isolate. *FEMS Microbiol Lett*. 2017;364(12):1-10.
33. Georgescu M, Gheorghe I, Curutiu C, Lazar V, Bleotu C, Chifiriuc MC. Virulence and resistance features of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from chronic leg ulcers. *BMC Infect Dis*. 2016;16(1):3-9.
34. Holban AM, Chifiriuc MC, Cotar AI, Bleotu C, Grumezescu AM, Banu O, et al. Virulence markers in Pseudomonas aeruginosa isolates from hospital-acquired infections occurred in patients with underlying cardiovascular disease. *Rom Biotechnol Lett*. 2013;18(6):7243-54.
35. Le Berre R, Nguyen S, Nowak E, Kipnis E, Pierre M, Ader F, et al. Quorum-sensing activity and related virulence factor expression in clinically pathogenic isolates of Pseudomonas aeruginosa. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14(4):337-33.

# Hemovijilans hemşireliği ve transfüzyon güvenliğine katkısı

## Hemovigilance nursing and contribution to transfusion safety

Rabiya GÜN<sup>1</sup>, Semra ÖZ<sup>2</sup>, Selma ALTINDIŞ<sup>3</sup>, Yeşim UYUTAN<sup>4</sup>, Mehmet KÖROĞLU<sup>2</sup>, Mustafa ALTINDIŞ<sup>2</sup>

### ÖZET

**Amaç:** Hemovijilans, kan ve ürünlerinin elde edilmesinden son alıcıların takibine kadar bütün transfüzyon basamaklarını eksiksiz izleme prosedürüdür. Hemovijilansın ana hedefi, transfüzyonun güvenliğini arttırmaktır. Çalışmamızda Sakarya Eğitim ve Araştırma Hastanesi sağlık personelinin transfüzyon güvenliği hakkında bilgi düzeyi, eğitim sonrası değerlendirme ve hemovijilans hemşireliğinin transfüzyon güvenliğine katkısının irdelenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışma, Sakarya Üniversitesi Klinik Araştırmalar Girişimsel Olmayan Etik Kurulu'ndan 02.07.2018 tarihinde 166 karar numarası ile onay alındıktan sonra, Ocak-Temmuz 2018 tarihlerinde Sakarya Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde çalışan ve araştırmaya katılmayı kabul eden 432 sağlık personeli ile gerçekleştirilmiştir. Katılımcılara, eğitim öncesi ve transfüzyon güvenliği eğitimi sonrası durumu değerlendiren, literatürden yararlanılarak oluşturulmuş 20 soruluk bir anket uygulanmıştır. Veriler SPSS 20.0 istatistik paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Çalışma grubunu oluşturanların 329'u (%76.2) kadın, 103'ü (%23.8) erkek olup yaş ortalaması 29.1±8.7 yıl idi. Katılımcıların meslek dağılımına bakıldığında 48'i (%11.1) doktor, 256'sı (%59.3) hemşire ve 128'i (%29.6) diğer yardımcı sağlık personeli idi.

### ABSTRACT

**Objective:** Hemovigilance is a thorough follow-up procedure for all transfusion steps, from the acquisition of blood and its products to the follow-up of end-recipients. The main goal of hemovigilance is to increase the safety of transfusion. The aim of this study was to investigate the level of knowledge about the transfusion safety of the health personnel of Sakarya Training and Research Hospital, the post-training evaluation and the contribution of hemovigilance nursing to the safety of transfusion.

**Methods:** The study was carried out with 432 health personnel who were working at Sakarya Training and Research Hospital between January and July 2018 and accepted to participate in the study. A questionnaire consisting of 20 questions was applied to participants before and after education and transfusion safety education. The data were evaluated by using SPSS 20.0 statistical package program.

**Results:** Of the study group, 329 (76.2%) were female and 103 (23.8%) were male. The mean age was 29.1 ± 8.7 years. 48 (11.1%) were doctors, 256 (59.3%) were nurses and 128 (29.6%) were other health personnel. The median of the working year was 5.5 years (1-43 years) and the median of the study was 2.0 (1-42 years). The mean score of the study group ranged

<sup>1</sup>Sakarya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbi Bilim Dalı, Sakarya

<sup>2</sup>Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Sakarya

<sup>3</sup>Sakarya Üniversitesi, İşletme Fakültesi, Sağlık Yönetimi Ana Bilim Dalı, Sakarya

<sup>4</sup>Özel Konak Hastanesi, Kocaeli, Sakarya



İletişim / Corresponding Author : Rabiya GÜN

Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Sakarya - Türkiye

Tel : +90 554 251 65 63 E-posta / E-mail : rabia\_alkan@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 20.05.2019

Kabul Tarihi / Accepted : 17.07.2019

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2019.19970

Gün R, Öz S, Altındış S, Uyutan Y, Köroğlu M, Altındış M. Hemovijilans hemşireliği ve transfüzyon güvenliğine katkısı. Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(4): 405-414

Çalışanların meslekteki çalışma yılı ortancası 5.5 (1-43 yıl) iken bulunduğu klinikte çalışma yılı ortancası 2.0 (1-42 yıl) olarak bulunmuştur. Çalışma grubunun bilgi sorularından aldığı puan, 20 soru üzerinden 1 ile 19 arasında değişirken ortalaması  $9.7 \pm 4.2$  olarak hesaplanmıştır. Çalışmada cinsiyet ile bilgi puan ortalamaları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Eğitim sonrası tekrar test grubunun bilgi puan ortalaması  $13.3 \pm 5.2$  olup eğitim öncesine göre anlamlı düzeyde yüksektir ( $p < 0.001$ ).

**Sonuç:** Çalışmalarda eğitimin etkisi net bir şekilde görülmekte olup transfüzyon güvenliğinin sağlanması ve reaksiyonların azaltılmasında ilgili sağlık personelinin farkındalığının artırılmasının önemi yadsınamaz. Ayrıca bu tür çalışmalarla sağlık çalışanlarında hemovijilans takibinde hangi süreçlerde aksama olduğunun tespit edilerek o konuya yönelik çalışmalar yapılması faydalı olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Hemovijilans hemşireliği, kan transfüzyonu, transfüzyon reaksiyonu, eğitim, bilgi düzeyi

from 1 to 19 on 20 questions, and the mean score was  $9.7 \pm 4.2$ . There was no significant difference in gender and knowledge scores. The mean score of the post-test re-test group was  $13.3 \pm 5.2$  and it was significantly higher than the pre-training level ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** The effect of education is clearly seen in the studies and it cannot be denied that the awareness of related health personnel should be increased in order to ensure the safety of transfusion and decrease the reactions. In addition, it will be useful to determine the processes in which health care workers are experiencing hemovigilance by determining the disruption of these processes.

**Key Words:** Hemovigilance nursing, blood transfusion, transfusion reaction, education, knowledge level

## GİRİŞ

Hemovijilans, hem vericide hem de alıcıda gerçekleşebilecek bütün istenmeyen reaksiyonları ve transfüzyon aşamalarında meydana gelen istenmeyen olayları içerir. Ayrıca donörlerin epidemiyolojik olarak takibini de sağlamaya yardımcı olur. Hemovijilansın ana hedefi transfüzyon güvenliğini arttırmaktır (1). Bu kapsamda transfüzyonun tüm aşamalarında istenmeyen olay ve reaksiyonlar hakkında güvenilir bilgiye ulaşmak, hatalı uygulamalar, istenmeyen olay ve reaksiyonların tekrarının engellenmesi amacıyla düzeltici ve önleyici faaliyetlerde bulunmak, istenmeyen olay ve reaksiyonların birçok kişiyi etkileyebileceği konusunda hastane ve kan hizmet birimlerini uyarmak hemovijilans sisteminin temel amaçlarından (2).

Transfüzyon tıbbında en büyük risk, sıklıkla

yanlış kan bileşenlerinin transfüzyonuna neden olan insan hatasıdır (3). Birçok Hemovijilans sistemi veri kaynağına göre yanlış kan grubu transfüzyonu, dünya çapında transfüzyon güvenliğinde hala önemli bir sorun olmaya devam etmektedir ve viral enfeksiyon bulaşı ile ilişkili transfüzyonların toplam riskini aşmaktadır (4-6).

Ülkemizde kan transfüzyonu güvenliği ve bilgi düzeyi değerlendirmesi anlamında bazı çalışmalar yapılmıştır. Fakat hemovijilans ve hemovijilans hemşireliği alanına olan ilgi gün geçtikçe artsa da henüz bu konuda ülkemizde yeterince çalışma yapılmamıştır. Bu çalışmada, transfüzyon ve reaksiyonları hakkında bilgi düzeyini belirleme, bu konuda eğitimler planlayarak sağlık personelinin hemovijilans hakkındaki bilgi düzeyini arttırması ve



hemovijilans hemşireliğinin önemine dikkat çekilmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma, gerekli yasal ve etik izinler sonrası, Ocak-Temmuz 2018 tarihlerinde Sakarya Eğitim Araştırma Hastanesi'nde çalışmakta olan ve araştırmaya katılmayı kabul eden 432 sağlık personeli ile gerçekleşmiş, katılımcılara eğitim verilerek eğitim öncesi ve sonrası durumun değerlendirildiği bir müdahale araştırmasıdır.

Çalışmada literatürden yararlanılarak bir anket form oluşturulmuştur. Anket formu, yaş, cinsiyet, meslek, hangi klinikte çalıştığı, meslekteki yılı, klinikteki yılı, kan bağışında bulunup bulunmadığı, kan transfüzyonunun herhangi bir aşamasında bulunup bulunmadığı ve transfüzyon esnasında herhangi bir reaksiyon ile karşılaşmış karşılaşmadığını içeren soruların yanında hemovijilans bilgi düzeyini ölçmek için 20 bilgi sorusundan oluşmaktadır. Bilgi sorularında her doğru cevap bir puan olarak değerlendirilmiştir. Dolayısı ile anket formdaki bilgi sorularından alınabilecek en fazla puanın 20 olduğu düşünüldüğünde bu puanın %50'sinin (10 puan) üzeri bir değer yeterli bilme seviyesi olarak kabul edilmiştir.

Çalışmada katılımcılara anket form ve çalışma ile ilgili bilgi verildikten sonra çalışmayı kabul eden gönüllülerden anket formu doldurması istenmiştir.

Çalışmada ilk değerlendirme yapıldıktan sonra 432 katılımcıya hemovijilans hemşireleri tarafından transfüzyon güvenliği eğitimleri verilmiştir. Eğitim, hazırlanan sunularla yaklaşık 30 dakika süren sözlü anlatımlar şeklinde yapılmıştır. Verilen eğitimin konu başlıkları; Hemovijilans nedir? Hastane Düzeyinde Hemovijilans, Hemovijilans Hemşireliği, Kan ve Kan Ürünlerinin Transfüzyonu ve Saklama Koşulları, Transfüzyon Reaksiyonları şeklindedir.

Eğitim sonrası test için katılımcılar arasından örneklem ile sayı belirlenmiştir. Bunun için, çalışma grubunun %50'sinin bilgi düzeyinin yeterli olduğu, eğitim çalışmalarını sonucunda bu oranı %75'e

çıkarcığımızı varsayarak %95 güven aralığı ve %80 güç ile çalışılması gereken minimum örneklem sayısı 58 olarak hesaplanmıştır. Eğitim öncesinde hangi klinikten kaç çalışan çalışmaya katıldıysa benzer şekilde oranlanarak eğitim sonrası 62 katılımcıya test uygulanmıştır.

Veriler SPSS 20 istatistik paket programı (SPSS Inc., USA) kullanılarak değerlendirilmiş, sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu için Shapiro Wilk testi kullanılmıştır. Sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında bağımsız örneklem t testi ve Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Bağımsız ikiden çok grup Anova testi veya Kruskal Wallis testi ile analiz edilmiştir. İlişki değerlendirmesinde normaliteye göre Pearson veya Spearman Korelasyon Katsayısı kullanılmıştır. Kategorik değişkenler Ki-kare testi kullanılarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık için  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Çalışma grubunu oluşturanların yaşları 17 ile 66 arasında olup ortalamaları  $29.1 \pm 8.7$  yıldır. Katılımcıların meslek dağılımına bakıldığında 48'i doktor, 256'sı hemşire ve 128'i diğer sağlık personelidir (laboratuvar teknisyeni, ebe, sağlık bakım teknisyeni). Çalışanların meslekteki çalışma yılı ortancası 5.5 (1-43) iken bulunduğu klinikte çalışma yılı ortancası 2.0 (1-42 yıl) olarak hesaplanmıştır. Çalışma grubunun bazı özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.

Çalışmada daha önceden kan bağışında bulunduğunu belirtenlerin sayısı 86 (%19.9), transfüzyon aşamalarında görevli olarak bulunduğunu ifade edenlerin sayısı ise 256 (%59.3) iken görevi esnasında herhangi bir transfüzyon reaksiyonu geliştiğini bildirenlerin sayısı 67 (%15.5) olarak bildirilmiştir.

Anket sorularına verilen cevaplar değerlendirildiğinde en fazla doğru yanıtlanan soru "Transfüzyonu devam eden hastada akut hemolitik

Tablo 1. Çalışma grubunun demografik özellikleri

	n=432	%
<b>Cinsiyet</b>		
Kadın	329	76.2
Erkek	103	23.8
<b>Yaş</b>		
25 yaş altı	182	42.1
26-35 yaş arası	144	33.3
36 yaş ve üzeri	106	24.5
<b>Meslek</b>		
Doktor	48	11.1
Hemşire	256	59.3
Diğer sağlık personeli	128	29.6
<b>Çalışılan klinik</b>		
Yoğun bakım	151	35.0
Acil	30	6.9
Dahiliye	30	6.9
Pediyatri	33	7.6
Kadın doğum	27	6.3
Genel cerrahi	25	5.8
Laboratuvarlar	34	7.9
Diğer klinikler	102	23.6

transfüzyon reaksiyonundan kuşulanılması durumunda hastaya yapılması gereken uygulamaları öncelik sırasına göre yazınız” sorusu, en fazla yanlış yanıtlanan soru ise “Hangi durumda imzalı bilgilendirilmiş onamın yeniden alınmasına gerek yoktur?” sorusudur.

Çalışma grubunun bilgi sorularından aldığı puan 1 ile 19 arasında değişirken ortalaması  $9.7 \pm 4.2$  olarak bulunmuştur. Çalışmada cinsiyet ile bilgi puan ortalamaları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p=0.538$ ). Çalışılan klinik ile bilgi puan ortalamaları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p=0.546$ ). Çalışma grubunun bilgi puan ortalamalarının dağılımı Tablo 2’de verilmiştir.

Meslekte 5 yılın üzerinde tecrübesi bulunanlarda bilgi puan ortalaması anlamlı olarak yüksektir

( $p<0.001$ ). Çalışma grubunun hem meslekteki hem de klinikteki yılıyla bilgi puan ortalamaları arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (sırasıyla  $p=0.003$ ,  $p=0.031$ ). Meslekte ve klinikte geçen yıl arttıkça bilgi puan ortalamaları da artmaktadır. Meslekte ve klinikte geçen yıl ile bilgi puan ortalamaları arasındaki ilişki Tablo 2’de verilmiştir.

Kan bağışında bulunanlar ile bulunmayanlar arasında bilgi puan ortalaması açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p=0.755$ ). Daha önce kan transfüzyonu aşamalarında görevli olarak bulunanların bilgi puan ortalaması  $10.3 \pm 4.2$  iken bulunmayanların ortalaması  $8.8 \pm 4.1$  olarak saptanmış ve aradaki fark anlamlı bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Kan transfüzyonu aşamalarında bulunup da transfüzyon reaksiyonu gelişenler ile gelişmeyenler arasında ise istatistiksel

Tablo 2. Çalışma grubunun bilgi puan ortalamalarının dağılımı

	Bilgi puan ortalaması	P
<b>Cinsiyet</b>		
Kadın	9.8±4.2	0.538
Erkek	9.5±4.2	
<b>Yaş</b>		
25 yaş altı	8.4±3.8	<0.001
26-35 yaş arası	10.7±4.1	
36 yaş ve üzeri	10.8±4.4	
<b>Meslek</b>		
Doktor	11.7±3.9	<0.001
Hemşire	10.0±4.2	
Diğer sağlık personeli	8.4±4.1	
<b>Meslekte geçen yıl</b>		
5 yıl altı	9.1±4.1	<0.001
5 yıl üstü	10.4±4.2	
<b>Çalışılan klinik</b>		
Yoğun bakım	9.5±4.2	0.546
Acil	9.5±4.9	
Dahiliye	10.1±3.3	
Pediyatri	10.0±4.1	
Kadın doğum	9.5±3.1	
Genel cerrahi	9.6±3.5	
Laboratuvarlar	11.3±4.3	
Diğer klinikler	9.6±4.6	

anlamli bir fark bulunamamıştır (p=0.307).

Eğitim sonrası test grubunda katılımcılardan 44'ü (%71.0) kadın, 18'i (%29.0) ise erkek olup yaşları 19 ile 44 arasında değişip ortalaması 29.2±6.5 yıldır. Çalışmada test öncesi ve test sonrası yaş ve cinsiyet açısından anlamlı fark yoktur (sırasıyla p=0.896, p=0.374). Eğitim sonrası test grubunda en fazla yanlış işaretlenen soru ilk gruba aynı iken en fazla doğru işaretlenen soru "Kan ürünlerinin transfüzyonu sırasında aynı damardan verilebilecek sıvı aşağıdakilerden hangisidir?" sorusudur. Çalışmada ilk gruba göre doğru yapıma yüzdesi en fazla artan soru %36.7 ile "Çapraz karşılaştırma için gönderilen

hasta kan örneği uygun koşullar altında en fazla kaç gün bu amaçla kullanılabilir?" sorusudur. Eğitim öncesine göre "Hangi durumda imzalı bilgilendirilmiş onamın yeniden alınmasına gerek yoktur?" sorusu hariç tüm soruların bilinme yüzdesi artmıştır. Ayrıca bu soru hem eğitim öncesi hem eğitim sonrası en az bilinen soru olmuştur.

Eğitim sonrası test grubunun bilgi puan ortalaması 13.3±5.2 olarak bulunmuştur. İlk gruba göre eğitim sonrası test grubunun bilgi puan ortalaması anlamlı düzeyde yüksektir (p<0.001). Eğitim sonrası test grubunun anket sorularına verdikleri cevaplar Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Eğitim sonrası anket sorularına verdikleri cevaplar

Sorular	Yanlış n (%)	Doğru n (%)	Bilinme artışı %
1) Çapraz karşılaştırma (Cross-match) testinde hasta kanının hangi bölümü kullanılır?	32 (51.6)	30 (48.4)	18.8
2) Çapraz karşılaştırma için gönderilen hasta kan örneği uygun koşullar altında en fazla kaç gün bu amaçla kullanılabilir?	21 (33.9)	41 (66.1)	<b>36.7</b>
3) A Rh(+) hastaya aşağıdakilerden hangi kan bileşeni verilemez?	26 (41.9)	36 (58.1)	20.4
4) Acil durumlarda aranan kan grubundan taze donmuş plazma (TDP) temin edilemiyorsa hastaya aşağıda belirtilen hangi gruptan TDP transfüze edilebilir?	30 (48.4)	32 (51.6)	11.8
5) Eritrositler filtre edildiğinde aşağıdakilerden hangisi ortamdan uzaklaştırılmaktadır?	15 (24.2)	47 (75.8)	20.9
6) Aşağıdakilerden hangisi trombosit süspansiyonları için saklama ısısıdır?	18 (29.0)	44 (71.0)	<b>26.8</b>
7) Kan komponentleri hangi amaçla ışınlama işlemine tabi tutulur?	13 (21.0)	49 (79.0)	25.8
8) Trombosit süspansiyonları transfüzyonundan sonra transfüzyonun etkinliği aşağıdakilerden hangisi ile tespit edilmelidir?	20 (32.3)	42 (67.7)	20.2
9) Eritrosit süspansiyonu transfüzyonu kararı verirken hangisi göz önüne alınmalıdır?	19 (30.6)	43 (69.4)	13.4
10) 1 ünite eritrosit süspansiyonu normal koşullarda erişkin hastaya en geç kaç saat içinde verilmelidir?	8 (12.9)	54 (87.1)	21.6
11) Aşağıdakilerden hangisi TDP için saklama ısısıdır?	23 (37.1)	39 (62.9)	9.7
12) Kan ürünlerinin transfüzyonu sırasında aynı damardan verilebilecek sıvı aşağıdakilerden hangisidir?	0 (0)	<b>62 (100)</b>	21.1
13) Aşağıdakilerden hangisi transfüzyon izlemi ile ilgili yapılması gerekenlerden değildir?	7 (11.3)	55 (88.7)	4.9
14) Aşağıdakilerden hangisi transfüzyon esnasında hastada karşılaşılabilecek olası akut hemolitik transfüzyon reaksiyonlarının belirtilerinden biri değildir?	35 (56.5)	27 (43.5)	17.8
15) Transfüzyonu devam eden hastada akut hemolitik transfüzyon reaksiyonundan kuşulanılması durumunda hastaya yapılması gereken uygulamaları öncelik sırasına göre yazınız.	2 (3.2)	60 (96.8)	8.6
16) Transfüzyon için gerekli kan komponentlerinin kullanımları ile ilgili hangisi doğru değildir?	6 (9.7)	56 (90.3)	18.5
17) Akut Hemolitik Transfüzyon Reaksiyonunun en sık sebebi aşağıdakilerden hangisidir?	26 (41.9)	36 (58.1)	10.0
18) Hemolitik olmayan transfüzyona bağlı ateş reaksiyonlarını önlemek için ne yapılmalıdır?	24 (38.7)	38 (61.3)	<b>35.1</b>
19) Hangi durumda imzalı bilgilendirilmiş onamın yeniden alınmasına gerek yoktur?	<b>58 (93.5)</b>	4 (6.5)	-6.7
20) Hastadan bağışçıya iz sürme prosedürü kim tarafından başlatılır?	29 (46.8)	33 (53.2)	22.2

## TARTIŞMA

Kan nakli hayat kurtarıcı ve sağlığı iyileştiren bir tedavi yöntemi olduğundan, dünya çapında yılda yaklaşık 112 milyon ünite kan bağışı toplanmaktadır. Bununla birlikte, bu uygulama, hem verici hem de alıcı için istenmeyen olaylara veya kazalara yol açabileceğinden risksiz değildir (7). Bu yüzden hemovijilans sistemi özellikle transfüzyonların kalitesini ve güvenliğini arttırmaya adanmış bir araç olarak ortaya çıkmıştır (8).

Çalışma grubunun yaklaşık %76'sı kadındır. Kalındemirtaş'ın yaptığı çalışmada gönüllülerin %45'i, Encan'ın yaptığı çalışmada ise %76'sının kadın olduğu bildirilmiştir (9,10). Bu çalışmada katılımcıların sadece %11'i doktor olup doktorlar, yoğun çalıştıkları gibi bazı gerekçelerle çalışmaya katılmayı çok kabul etmemişlerdir. Bu tür çalışmalar gönüllülük esasıyla yapıldığı için bu durumun cinsiyet ve meslek grubu açısından çalışmalar arası farklılığa yol açacağı aşikardır.

Çalışmada eğitim öncesinde en fazla doğru yanıtlanan soru "Transfüzyonu devam eden hastada akut hemolitik transfüzyon reaksiyonundan kuşulanılması durumunda hastaya yapılması gereken uygulamaları öncelik sırasına göre yazınız" sorusudur. Bu sorunun doğru cevaplanma oranı eğitim öncesinde %88 civarındayken eğitim sonrası %96'lara çıkmıştır. Bu soruyla yakından ilgili olabilen soru ise "Aşağıdakilerden hangisi transfüzyon esnasında hastada karşılaşılabilecek olası akut hemolitik transfüzyon reaksiyonlarının belirtilerinden biri değildir?" olup bu sorunun doğru bilinme oranı %25 seviyelerinde kalıp az bilinen sorular arasında iken eğitim sonrası doğru bilinme oranı %43 civarına yükselmiştir. Bu sonuca göre aslında sağlık personelinin "..transfüzyon reaksiyonu geliştiğinde ne yapılması gerekir.." konusunda yeterli seviyede bilgi sahibi olduğu halde "...hangi durumların transfüzyon reaksiyonu olarak değerlendirilmesi gerektiği..." konusunda yeterli seviyede bilgi sahibi olmadığı söylenebilir. Her ne kadar eğitim sonrasında

transfüzyon reaksiyonlarının bilinme oranı yükselse de yeterli seviyeye çıkmadığı düşünülmüştür.

Nitekim benzer şekilde Şahin'in çalışmasında da transfüzyon reaksiyonları geliştiğinde yapılacak girişimleri iyi bildikleri halde transfüzyon reaksiyonlarının belirtilerini bilme hususunda yeterli olmadıkları belirtilmiştir (11).

Yine bu çalışmada eğitim sonrası bilinme oranı en fazla artan soru "Çapraz karşılaştırma için gönderilen hasta kan örneği uygun koşullar altında en fazla kaç gün bu amaçla kullanılabilir?" sorusu olmuştur. Bu sorunun eğitim öncesi doğru cevaplanma oranı %29.4 iken eğitim sonrası %66.1'e çıkmıştır. Doğru bilinme oranı %36.7 artmıştır. Bu soruyu %35.1 artışla "Hemolitik olmayan transfüzyona bağlı ateş reaksiyonlarını önlemek için ne yapılmalıdır?" sorusu takip etmiştir. Bilinme yüzdesi en fazla artan üçüncü soru ise %26.8 artışla "Aşağıdakilerden hangisi trombosit süspansiyonları için saklama ısısıdır?" sorusudur. Çalışmamızda bilgilendirilmiş onamla ilgili olan soru hariç diğer tüm sorularda doğru bilinme oranlarında artış sağlanmıştır.

Çalışmamızda hem eğitim öncesi hem de eğitim sonrası en az bilinen soru ise "Hangi durumda imzalı bilgilendirilmiş onamın yeniden alınmasına gerek yoktur?" sorusudur. Kalındemir'in çalışmasında en az bilinen sorunun kan transfüzyonu yapılırken en fazla ne kadar ısıtılacağı konusundaki soru olduğu bildirilmiştir (9). Bizim çalışmamızda aynı soru olmasa da trombosit süspansiyonunun saklama ısısı ile ilgili soru sorulmuş ve bilinme oranı eğitim öncesinde %44'ler seviyesinde kalmıştır. Ancak eğitim sonrası bilinme yüzdesi en fazla artan sorular arasında yerini almıştır (%62.9). Encan'ın yaptığı çalışmada ise en az bilinen sorunun transfüzyon setlerinin ne kadar sürede değişmesi gerektiği ile ilgili soru olduğu rapor edilmiştir (10). Çalışmalar arasında en az bilinen sorularda bazı benzerlikler bulunsa da genel olarak farklı sonuçlara ulaşıldığı görülmüştür. Bu durumun nedenleri arasında farklı soruların farklı zorluk derecelerinde sorulmuş olma olasılığı yer almış olabilir.

Çalışma grubunun bilgi puan ortalaması  $9.7 \pm 4.2$

olarak bulunmuştur. Anket sorularından alınabilecek en fazla puanın 20 olduğu düşünüldüğünde bu puanın %50'sinin (10 puan) üzeri bir değer yeterli bilme seviye olarak kabul edilmiştir. Eğitim sonrasında ise bilgi puan ortalaması 13.3±5.2 olarak bulunmuştur. İlk gruba göre eğitim sonrası test grubunun bilgi puan ortalaması anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

Kalindemirtaş'ın çalışmasında, uzman doktorlar, asistan doktorlar ve diğer sağlık personeli karşılaştırılmış, sonuçta asistan doktorların diğer gruplara göre doğru cevaplama oranlarının düşük olduğunu belirtilmiştir (9). Bu durumu asistan doktorların çalışma hayatındaki yoğunluğuna, deneyim ve eğitim eksikliğine bağlamışlardır. Daha önce hekimler üzerinde yapılan çalışmalara bakıldığında genel olarak çoğu çalışmada %50 seviyesi ve altında doğru cevaplama olduğu, bazı çalışmalarda ise bu oranının üzerine çıktığı rapor edilmiştir (12-15). Fakat bu çalışmalarda sadece hekimler değerlendirilmiştir (16). Oysa bizim çalışmamızda tüm sağlık personeli değerlendirmeye alınmıştır. Bu çalışmaya göre hekimlerin bilgi düzeyinin diğer çalışanlara göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca hekimlerin bilgi puan ortalaması genel grubun puan ortalamasının aksine %50 değerinin üzerinde (11.7±3.9) saptanmıştır.

Şahin'in çalışmasında ise mevcut çalışmanın aksine bilgi puan ortalamalarını 100 üzerinden değerlendirmiş ve ortalamanın 69.9±14.2 olduğu ifade edilmiştir. Fakat Şahin çalışmasına sadece hemşireleri dahil etmiştir (11). Çalışmamızda hemşirelerin bilgi puanı hekimlerden düşük saptanırken diğer sağlık personelinde daha yüksektir. Şahin'in çalışmasında ise doğru cevaplama oranı hem çalışmamızdaki hemşirelerin hem de tüm grubun doğru cevaplama oranına göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte çalışmalarında kan transfüzyonu yapılmayan veya çok az yapılan klinikleri çalışma dışında tuttuklarını belirtmişlerdir (11). Encan'ın hemşireler üzerinde yaptığı başka bir çalışmada ise hemşirelerin kan transfüzyonu uygulamaları konusunda orta düzeyde bilgi sahibi olduğunu tespit

etmiştir(10).

Çalışmamızda meslekte 5 yılın üzerinde tecrübesi bulunanlarda bilgi puan ortalaması anlamlı olarak yüksektir. Ayrıca meslekte ve klinikte geçen yıl ile bilgi puan ortalamaları arasındaki ilişki baktığımızda hem meslekte hem de klinikte geçen yıl arttıkça bilgi puan ortalamaları da artmaktadır.

Şahin'in çalışmasında çalışma süreleri arttıkça bilgi puan ortalamalarının da arttığı bildirilmiştir. Çalışmalarında özellikle 0-2 yıl çalışma süresine sahip olanların daha düşük bilgi puanına sahip olduğu ifade edilmiştir (11). Encan'ın çalışmasında ise bu bulguların aksine hemşire olarak çalışma süresiyle bilgi puanları arasında anlamlı bir fark bulamadıkları belirtilmiştir (10). Mayaki ve arkadaşlarının çalışmasında da çalışma yılı ve tecrübe ile doğru cevap oranı arasında anlamlı bir ilişki bulamadıklarını fakat buna karşın sorular tek tek değerlendirildiğinde bazı maddeler için deneyimli olanlarda doğru cevap oranlarının daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (17).

Bu araştırmada kan bağışında bulunanlar ile bulunmayanlar arasında bilgi puan ortalaması açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Daha önce kan transfüzyonu aşamalarında görevli olarak bulunanların bilgi puan ortalaması anlamlı olarak yüksektir. Kan transfüzyonu aşamalarında bulunup da transfüzyon reaksiyonu gelişenler ile gelişmeyenler arasında ise istatistiksel anlamlı bir fark bulunamamıştır. Sadece kan bağışında bulunmanın transfüzyon ile ilgili süreçler konusunda bir ilgi doğurmaması normal olarak beklenebilir. Fakat bunun tersine kan transfüzyonunun her aşaması ciddi dikkat gerektiren önemli bir süreçtir. Dolayısıyla bu süreçlerden birinde görevli olarak bulunan bir personel de bulunduğu görevin ciddiyetiyle eksikliklerini kapatma konusunda daha istekli olması beklenebilir. Bu çalışmanın sonuçları da yukardaki bulgularla uyumludur.

Encan'ın çalışmasında hemşirelerin yaklaşık %22'sinin günde en az bir kez kan transfüzyonu uyguladığı, günde 2 kez ve üzeri sayıda transfüzyon uygulayan hemşirelerin bilgi düzeyinin de anlamlı

olarak yüksek olduğu belirtilmiştir. Transfüzyon sıklığı ile bilgi puanı arasında zayıf olsa da anlamlı bir ilişki olduğu ifade edilmiştir (18). Ayrıca aynı çalışmada hemşirelerin yaklaşık %79'unun kan transfüzyonu hakkında hizmet içi eğitim aldığı rapor edilmiştir. Fakat hizmet içi eğitim alanlarla almayanlar arasında anlamlı bir fark bulamadıklarını belirtmişlerdir (10). Çalışmalarında katılımcıların büyük çoğunluğu bu konuda hizmet içi eğitim aldığından fark bulamamış olabilirler. Şahin'in çalışmasında ise hizmet içi eğitimlerin hemşireler üzerinde oldukça etkili olduğu ve kan transfüzyonu ile ilgili bakıma yönelik bilgilerinin arttırıldığı rapor edilmiştir (11). Kalındemirtaş'ın çalışmasında da özellikle son iki yıl içinde eğitim alanların kan ürünlerinin uygulama işlemleri ve transfüzyon reaksiyonu protokolleriyle ilgili bilgi sorularını diğer gruba göre anlamlı olarak daha yüksek sayıda doğru cevapladıkları belirtilmiştir (11). Tramalloni ve arkadaşları çalışanlara yaygın bir şekilde etkin eğitimler verildiğinde hastanelerin transfüzyon uygulamalarını olumlu yönde geliştireceğini ortaya koymuştur (19).

Bu çalışmada hizmet içi eğitim alıp almadığı dikkate alınmaksızın çalışma bünyesinde eğitim verilmiştir. Eğitim sonucunda çalışma grubunun bilgi düzeyinde anlamlı artış sağlanmıştır. Dolayısıyla hizmet içi eğitim veya toplu örgün eğitimin çalışanların bilgi düzeyini arttıracakları hemovijilans uygulamaların katkıda bulunacağını düşünülmektedir. Eğitim

çalışmalarında örneğin en az bilinen transfüzyon reaksiyonlarını da içeren simülasyonlarla, reaksiyon sonrası uygulanması gereken protokolün uygulamalı olarak gösterildiği eğitim çalışmalarının bu konuda çok daha etkili olacağını varsayılmıştır. Ayrıca bu tarz çalışmalarla sağlık çalışanlarında hemovijilansın hangi süreçlerinde eksiklik olduğunun tespit edilerek o konuya yönelik çalışmalar yapılması faydalı olacaktır.

Çalışanlara hemovijilans hakkında sistematik eğitici çalışmalar yapılmasının yanında hangi konularda eksiklikler varsa o konuya yönelik broşürler, rehberler hazırlanarak servislerde bulundurulması eksikliklerin kapatılması noktasında fayda sağlayabilir. Çalışmamızda sistematik eğitim sonucunda yeterli bilgi seviyesine ulaşamadığımız “..transfüzyon reaksiyon belirtileri..” ve “...bilgilendirilmiş onam...” hususunda bu yöntemin uygulanması planlanmıştır.

Çalışmamız öncesinde başlatmış olduğumuz ve sonrasında da devam eden hemovijilans takiplerimizin, güvenli transfüzyon ve reaksiyonlar konusunda farkındalığın artmasına yardımcı olduğu gözlemlenmiştir. Bu süreçte hemovijilans koordinatörlüğü ve hemşireliğinin transfüzyon reaksiyonları, reaksiyonların belirtileri ve bildirimleri hususunda eğitimler vermeye başladığı zamandan itibaren transfüzyon reaksiyonlarındaki artışın bunun göstergesi olduğu düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. De Vries R, Faber JC, Strengers P, Network BotIH. Haemovigilance: an effective tool for improving transfusion practice. Vox Sanguinis. 2011;100(1):60-7.
2. Ulusal Hemovijilans Rehberi 2016. Türkiye 2008 Ulusal IPA (Katılım Öncesi Mali Yardım) Programı. TR0802.15-01/001 Türkiye'de Kan Tedarik Sisteminin Güçlendirilmesi Teknik Destek Projesi 2016;50-84.
3. Dzik WH. Emily Cooley Lecture 2002: transfusion safety in the hospital. Transfusion. 2003;43(9):1190-9.
4. Robillard P, Itaj NK, Corriveau P. Abo Incompatibile Transfusions, Acute and Delayed Hemolytic Transfusion Reactions in the Quebec Hemovigilance System—year 2000. Transfusion. 2002;42:255-6.

5. Stainsby D, Jones H, Asher D et al. Serious hazards of transfusion: a decade of hemovigilance in the UK. *Transfusion medicine reviews*. 2006;20(4):273-82.
6. Vamvakas EC, Blajchman MA. Transfusion-related mortality: the ongoing risks of allogeneic blood transfusion and the available strategies for their prevention. *Blood*. 2009;113(15):3406-17.
7. Dünya Sağlık Örgütü, %100 gönüllü kan bağışına doğru. [http://www.who.int/bloodsafety/publications/9789241599696\\_eng.pdf?ua=1](http://www.who.int/bloodsafety/publications/9789241599696_eng.pdf?ua=1) Erişim Tarihi: 04.06.2018.
8. Faber JC. The European Blood Directive: a new era of blood regulation has begun. *Transfusion medicine*. 2004;14(4):257-73.
9. Kalındemirtaş C. (2017). Sağlık Çalışanlarının Kan Ürünleri Transfüzyon Bilgi Seviyelerinin Değerlendirilmesi ve Karşılaştırılması. S.B.U. Şişli Hamidiye Etfal Eğitim Araştırma Hastanesi Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Danışman: Uzm. Dr. Oba S).
10. Encan B. (2017). Hemşirelerin Kan Transfüzyonu Uygulamalarına İlişkin Bilgi Düzeylerinin Değerlendirilmesi. İstanbul Bilim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, (Danışman: Doç. Dr. Akın S).
11. Şahin H. (2006). Hemşirelerin Kan Transfüzyonlarına Yönelik Bilgi Düzeyleri ve Buna Eğitimin Etkisi. A.K.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Afyon, (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Şahin DA).
12. Rock G, Berger R, Pinkerton P, Fernandes B. A pilot study to assess physician knowledge in transfusion medicine. *Transfusion Medicine*. 2002;12(2):125-8.
13. Salem-Schatz SR, Avorn J, Soumerai SB. Influence of knowledge and attitudes on the quality of physicians' transfusion practice. *Medical care*. 1993;868-78.
14. Gharehbaghian A, Javadzadeh Shahshahani H, Attar M, Rahbari Bonab M, Mehran M, Tabrizi Namini M. Assessment of physicians knowledge in transfusion medicine, Iran, 2007. *Transfusion Medicine*. 2009;19(3):132-8.
15. Matot I, Einav S, Goodman S, Zeldin A, Weissman C, Elchahal U. A survey of physicians' attitudes toward blood transfusion in patients undergoing cesarean section. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2004;190(2):462-7.
16. Gezer E. (2015). Tıp Fakülteleri ve Eğitim Araştırma Hastaneleri acil Tıp Uzmanları ve Acil Tıp Araştırma Görevlilerinin Kan Transfüzyonları Hakkındaki Bilgi, Tutum ve Davranışlarının Değerlendirilmesi. T.Ü. Tıp Fakültesi Acil Tıp, Tıpta Uzmanlık Tezi, Edirne, (Danışman: Doç. Dr. Sayhan MB).
17. Mayaki Z, Kabo R, Moutschen M, et al. Knowledge, attitudes and clinical practice of blood products prescribers in Niamey. *Transfusion Clinique et Biologique*. 2016;23(2):78-85.
18. Fasano R, Luban NL. Blood component therapy. *Pediatric Clinics*. 2008;55(2):421-45.
19. Tramalloni D, Aupérin A, Oubouzar N, Lapierre V. Implication du personnel infirmier dans la sécurité transfusionnelle: évaluation des connaissances et de la pratique à l'institut Gustave-Roussy. *Transfusion clinique et biologique*. 2005;12(6):427-32.



## Hematological aspects of extrahepatic portal vein obstruction in childhood

### Çocukluk çağında ekstrahepatik portal ven obstrüksiyonuna hematolojik bakış açısı

Neslihan KARAKURT<sup>1</sup>, Fatma DEMİRBAŞ<sup>2</sup>, Gönül ÇALTEPE<sup>2</sup>, Canan ALBAYRAK<sup>1</sup>, Ayhan Gazi KALAYCI<sup>2</sup>

#### ABSTRACT

**Objective:** Extrahepatic portal vein obstruction is rare but considerable cause of portal hypertension (PHT). Patients may present with cytopenia(s) or bleeding, to hematology clinics. The aim of this study is to present our experience of patients with this rare disease and emphasize the value of thrombophilia assessment in portal venous thrombosis (PVT).

**Methods:** Children admitted to our hospital between June 2006 and October 2018 with diagnosis of extra-hepatic portal venous anomalies are included. Vascular anomalies were defined as thrombus and/or portal cavernoma (PC). The medical reports were assessed retrospectively.

**Results:** Twelve patients (Female/Male: 9/3) aged 4.6±3.4 years old are included. The most common complaints on admission were abdominal pain and upper gastrointestinal bleeding. Ten patients (83%) had cytopenia(s) at diagnosis; eight (67%) had anemia, five had (42%) leukopenia and nine had (75%) thrombocytopenia. Imaging studies revealed thrombus in ten (83%) and PC in ten (83%) patients. Five patients

#### ÖZET

**Amaç:** Ekstrahepatik portal ven obstrüksiyonu nadir ancak önemli bir portal hipertansiyon (PHT) nedenidir. Hastalar sitopeni veya kanama ile hematoloji kliniğine başvurabilirler. Bu çalışmanın amacı bu hastalardaki tecrübemizi aktarmak ve portal ven trombozunda (PVT) trombofili araştırmasının önemini vurgulamaktır.

**Yöntem:** Haziran 2006 ve Ekim 2018 tarihleri arasında hastanemize başvuran ve ekstra hepatik portal ven anomalisi tanısı alan çocuklar çalışmaya dahil edildi. Vasküler anomaliler trombus ve/veya portal kavernom (PK) olarak ifade edildi. Bulgular retrospektif olarak incelendi.

**Bulgular:** Yaş ortalaması 4,6 ± 3,4 olan 12 hasta (K/E: 9/3) çalışmaya dahil edildi. Başvuruda en sık şikayet karın ağrısı ve gastrointestinal kanamaydı. Hastaların onunda (%83) sitopeni vardı; sekizi (%67) anemik, beşi (%42) lökopenik ve dokuzu (%75) trombositopenikti. Görüntüleme yöntemleri ile on hastada trombus, on hastada portal kavernom (PK) tespit edildi. Beş hastanın umbilikal kateterizasyon hikayesi olup birinde ayrıca

<sup>1</sup>Samsun Ondokuz Mayıs University, Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Division of Hematology, Samsun

<sup>2</sup>Samsun Ondokuz Mayıs University, Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Division of Gastroenterology, Samsun



İletişim / Corresponding Author : Neslihan KARAKURT

Ondokuz Mayıs Üni. Tıp Fakültesi Hast., Çocuk Hematoloji Bölümü 55000 Samsun - Türkiye  
Tel : +90 533 346 37 70 E-posta / E-mail : neslihan.karakurt@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 17.04.2019  
Kabul Tarihi / Accepted : 08.09.2019

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2019.89106

Karakurt N, Demirbaş F, Çaltepe G, Albayrak C, Kalaycı AG. Hematological aspects of extrahepatic portal vein obstruction in childhood. Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(4): 415-422

had a history of umbilical catheterization and one was also positive for homozygous mutation of Factor V Leiden. Four patients were positive for heterozygous mutation of PAI-1.

**Conclusion:** PVT during childhood is rare, it may present with thrombocytopenia, splenomegaly and esophageal varices bleeding. Although PVT it is not a common cause of thrombocytopenia in children, clinicians are encouraged to get information regarding history of umbilical catheterization in neonatal period and obtain portal doppler ultrasound in cases with splenomegaly. Further studies about PVT Plasminogen activator inhibitor 1 mutations are needed.

**Key Words:** Portal vein thrombosis, thrombocytopenia, gastrointestinal system bleeding, splenomegaly, plasminogen activator inhibitor-1

Faktör V Leiden homozigot mutasyonu saptandı. Dört hastada ise PAI-1 heterozigot mutasyonu saptandı.

**Sonuç:** Çocukluk çağında PVT nadir olup trombotositopeni, splenomegali ve özofajial varis kanaması ile prezente olabilir. Çocuklarda PVT trombotositopeninin sık bir nedeni olmamasına rağmen klinisyenlerin yenidoğan döneminde umbilikal ven kateterizasyonu ile ilgili bilgi alması ve splenomegalisi olan hastalarda portal doppler USG değerlendirmesi önerilir. PAI-1 mutasyonları ile ilgili daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** portal ven trombozu, trombotositopeni, gastrointestinal kanama, splenomegali, plazminojen aktivatör inhibitör-1

## INTRODUCTION

Extra hepatic portal vein obstruction (EHPVO) is characterized by a barrier located on the trunk or the branches of portal vein (1). The primary obstruction has usually been referred to portal vein thrombosis (PVT). The term portal cavernoma (PC), or cavernomatous transformation of the portal vein, corresponds to the set of collateral veins replacing the portal vein and thus to a long-standing process. PC (2, 3). In adults, PC development is always related to prior thrombosis, whereas in children, PC might also result from a congenital malformation (2).

Although EHPVO is rare in children, it is a considerable cause of extrahepatic portal hypertension (PHT), accounting for up to 75% of cases in developing countries (3). PVT often occurs during the neonatal period with an estimated incidence of 1.3/100000 live births and 36/1000 neonatal intensive care unit (NICU) admissions (4). However, neonatal PVT is often asymptomatic and only identified in

the subset of patients who develop symptomatic PHT several years after the initial thrombotic event. Thus the true incidence is likely to be higher (4). The etiology is highly diverse, including umbilical catheterization and hypercoagulability states.

The aim of this study is to present our experience of patients with this rare disease and emphasize the value of thrombophilia assessment in PVT.

## MATERIAL and METHOD

Children admitted to our hospital between June 2006 and October 2018 with diagnosis of extrahepatic portal venous anomalies are included in this study. Children with chronic liver disease related to other etiology and patients with cytopenia(s) related to reasons other than hypersplenism are excluded. Autoimmunity (direct anti-globulin test), hemolytic anemia (reticulocytosis), vitamin B12 deficiency (low levels of vitamin B12 in serum) and bone marrow

failure (malign transformation or hypocellularity in bone marrow, reticulocytopenia); were excluded.

Vascular anomalies were defined as trombus and/ or PC, shown by either Doppler ultrasound, angio-MR or angio-CT. The medical reports were assessed retrospectively. Demographic data, complaint on admission, existence of cytopenia(s), data of ultrasound and other imaging modalities, data of endoscopic examination are recorded. Anemia was defined as hemoglobin value less than 11 g/dl, leukopenia was defined as leukocyte count less than  $4.0 \times 10^3 / \text{mm}^3$  and thrombocytopenia was defined as platelet count below  $150 \times 10^3 / \text{mm}^3$ .

Laboratory work-up for chronic liver disease included hepatitis A, B and C serology, autoantibody panel for autoimmune hepatitis (ANA, ASMA, AMA, anti-dsDNA), alpha-fetoprotein, alpha-1 antitrypsin and ceruloplasmin level. Laboratory work-up for thrombophilia included protein C/ S, anti-thrombin three levels and mutation analysis for factor V Leiden, prothrombin G20210A, methylene-tetra-hydro-folate reductase (MTHFR) C677T and plasminogen activator inhibitor 1 (PAI- 1).

The study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association.

Data were analyzed statistically with SPSS version 17. Normal distribution of data were assessed by Kolmogorov-Smirnov Test. Since the distribution of variables were normal, scale variables were expressed as mean  $\pm$  standard deviation (SD). Categorical data were expressed as number and percentage (%).

## RESULTS

Twelve patients (Female/ Male: 9/ 3) are included in study (Table 1). The mean age at presentation was  $4.6 \pm 3.4$  (range: 0.5- 12.5) years. The most common complaints on admission were abdominal pain and upper gastrointestinal bleeding (92% of

total complaints). On admission, splenomegaly was detected in nine (75%) and hepatomegaly in four (33%) patients. Ascites was not present in any of patients. Ten patients (83%) had cytopenia(s) at diagnosis; eight (67%) had anemia, five (42%) leukopenia and nine (75%) thrombocytopenia (Table 1). Pancytopenia was detected in only three (25%) patient. Two of eight anemic patients had additional thrombocytopenia. Seven patients with anemia had hypersplenism and/ or upper gastrointestinal bleeding whereas one had nutritional iron deficiency anemia. All patients with leukopenia had other cytopenia(s) which was consistent with hypersplenism. The patients without cytopenia (n=2) were at the age of one and 1.5, respectively. None of the patients had prolonged INR nor low albumin level. Full laboratory work- up for chronic liver disease was performed in ten patients and they were all within normal ranges. All patients underwent Doppler USG and/ or angio-MR, angio-CT, which revealed thrombus in ten (83%), PC in ten (83%) patients. Bone marrow aspiration was performed in 6 (55%) patients, which was free of malignancy and aplasia.

Etiological factor for PVT was determined in five patients: all had a history of umbilical catheterization and one was also positive for homozygous mutation of Factor V Leiden (Table 1 and 2). In addition, seven patients had levels of protein C below normal range; however two of them had levels below 50%. One patient had antithrombin III level of 71%. Four patients were positive for heterozygous mutation of PAI-1 (Table 2). None of patients re-experienced deep venous thrombus.

Eight patients (67%) underwent upper gastrointestinal system endoscopy; esophageal varices of levels two or three were detected in all of them. In addition to five patients who presented with upper gastrointestinal bleeding, one patients developed it during the follow-up period. None of bleeders required sclerotherapy. All patients with esophageal varices (n=8) were on propranolol continuously.

**Table 1.** Clinical and laboratory characteristics of patients with extra-hepatic portal vein obstruction (n=12)

Parameter	N(%) or mean±2SD (range)	
Age at diagnosis (years)	4.6± 3.4	(range: 0.5- 12,5)
Gender (female/ male)	9/ 3	
<b>Presentation</b>		
	Abdominal pain	6 (50%)
	Upper gastrointestinal bleeding	5 (42%)
	Epistaxis	1 (8%)
<b>Physical findings</b>		
	Splenomegaly	9 (75%)
	Hepatomegaly	4 (33%)
<b>Laboratory findings</b>		
	Hemoglobin (g/dl)	10.0± 2.6 (range:3.2- 12.7)
	WBC (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	7.5± 6.5 (range: 2.1-22.0)
	Platelet count (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	160± 120 (range: 49- 410)
	MCV (fl)	79± 4 (range: 72- 86)
	ALT	26± 15 (range:15- 57)
	AST	43± 21 (range: 24- 98)
	Leukopenia	5 (42%)
	Thrombocytopenia	9 (75%)
	Anemia	8 (67%)
<b>Imaging findings</b>		
	Thrombus	10 (83%)
	Cavernous transformation	10 (83%)
<b>Medication</b>		
	Propranolol	7 (64%)
	Low molecular weight heparin	5 (46%)
<b>Hypersplenism</b>		10 (83%)
<b>Follow-up period (years)</b>	5.0± 4.7	(range: 1- 13)

WBC: white blood cell count, MCV: mean corpuscular volume

Liver biopsy was performed in three (27%) patients, which were did not show abnormality. Two patients required surgical intervention for PHT. Five patients (46%) were given low molecular weight heparin, any benefit (recanalization of vessel) was not noted. Ten patients (83%) had findings of hypersplenism at presentation or during the follow up period. Patients were followed- up for 5.3± 4.5 years.

## DISCUSSION

Extrahepatic portal vein obstruction is an important cause of PHT. In our study, 12 patients were found to have EHPVO during 12 years period. The mean age at presentation was 4.6± 3.4 years. Gurekan et al. (5) demonstrated that they diagnosed 12 patients as EHPVT, with a mean age of 5.8 years,

**Table 2.** Thrombophilia assessment of patients with extrahepatic portal vein obstruction

No.	Age (y)	Sex	Radiology		Medical history	Serum levels (%)			Genetic Mutations			
			Th	PCv	UVC	PC	PS	AT 3	FVL	Proth.	MTHFR	PAI- 1
1	3	F	+	+	+	84	74	93	-	-	Het+	Het+
2	12.5	F	+	+	-	NA	NA	NA	-	-	Het+	Het+
3	1	M	+	+	-	64	84	100	-	-	-	Het+
4	6.5	F	+	+	+	46	NA	83	-	-	-	-
5	1.5	F	-	+	-	48	63	84	-	-	Het+	-
6	0.5	F	+	-	+	69	75	81	-	-	Het+	-
7	5	F	+	-	-	77	53	88	-	-	Het+	-
8	5	M	-	+	-	NA	NA	NA	-	-	-	-
9	5.8	F	+	+	-	56	71	123	NA	NA	NA	NA
10	5.5	F	+	+	+	106	72	124	Hom+	Het+	Het+	Het+
11	1.5	M	+	+	+	57	75	NA	-	-	-	-
12	7	F	+	+	NA	62	78	71	NA	NA	NA	NA

Th: Thrombus in portal vein, PCv: Portal cavernoma, UVC: Umbilical venous catheterization, PC: Protein C (normal range: 70-110%), PS: Protein S (normal range: 44-92%), AT3: Antithrombin III (normal range: 80-120%), FVL: Factor V Leiden, Proth: Prothrombin G2020A, MTHFR: Methylene tetrahydrofolate reductase C677T, PAI-1: Plasminogen activator inhibitor Hom:Homozygous, Het: Heterozygous, NA: Not applicable

during 14 years of period. The studies with larger populations from Egypt (6) and India (7) showed that the average age at diagnosis was 2.5 and 12.5, respectively. The wide range of age at presentation is remarkable. We speculate that this may be related to social and economical status of regions and opportunity to reach satisfactory medical evaluation.

We detected that the most common complaint on admission was abdominal pain and hematemesis. In recent similar reports, hematemesis from bleeding esophageal varices is the most common presenting symptom in children with PVT and it is the most serious complication of PHT in all ages (3, 6, 8- 9). EHPVO may not be discovered until gastrointestinal hemorrhage develops (10). Bleeding episodes may be preceded by a brief febrile illness and are often recurrent without treatment (3). In our study, splenomegaly was detected in nine patients, which seems to be similar to other studies (3, 6). The

presentation in neonates may be different than older children. Morag et al. (11) demonstrated that the most common indications for ultrasound in neonates (before diagnosing PVT) were thrombocytopenia (20%), abdominal distension (17%), elevated liver enzymes (7%) and hepatosplenomegaly (4%).

We detected that at presentation, ten patients (83%) had cytopenia: nine of them had thrombocytopenia. All patients with thrombocytopenia had splenomegaly, which was attributed to hypersplenism. Thrombocytopenia is a common finding in children admitted to hospital. The differential diagnosis has a wide range including infection related cytopenia, nutritional deficiencies, autoimmune disorders, bone marrow failure syndromes, malignant diseases and hypersplenism. Hypersplenism is a diagnosis made with the exclusion of other diagnoses. Although it is not a common etiology in children, clinicians are encouraged

to get information regarding history of umbilical catheterization in neonatal period and obtain portal doppler ultrasound in cases with splenomegaly. Eight patients were detected to have anemia at diagnosis. In EHPVO, anemia may be either due to bleeding or hypersplenism. Anemia related to hypersplenism is usually accompanied by thrombocytopenia and/or leukopenia. As mentioned above, six patients with anemia had additional cytopenia(s), one had severe anemia due to upper gastrointestinal bleeding (hemoglobin level: 3.2 g/dl) and one had only nutritional iron deficiency anemia. In our study group, five (42%) patients had leukopenia, which was attributed to hypersplenism. However the differential diagnosis is similar to that of thrombocytopenia. Bone marrow aspiration examination is frequently performed in order to rule out malignancy and aplastic anemia.

Thrombus was determined in ten (83%) and PC was detected in ten (83%) patients. In the presence of PVT, compensatory dilatation of hepatic artery and development of collateral vessels constitutes a tangle of tortuous vessels in the porta hepatis, which is named cavernous transformation (3). Criteria for dating thrombus development rely on imaging findings at the time of presentation. Solid endoluminal material in the absence of well-developed porto-portal collaterals for PVT is recent onset and large porto-portal collaterals without recognizable portal vein is for chronic PVT. Doppler ultrasound, CT scan, and MRI provide information of similar accuracy (2). However it can be diagnosed in children with PVT by Doppler ultrasound faster than other methods with advantage of showing splenomegaly and portosystemic collaterals (12).

Liver biopsy was requested by consultant and performed in three patients, which were within normal limits of microscopic examination. The necessity of liver biopsy is considerable. In a recent review, it is not recommended for diagnosis if evidence for portal venous obstruction has been obtained by noninvasive

imaging. But in special circumstances like the need to distinguish thrombosis from malignant invasion or rule out underlying cirrhosis/vascular portosinusoidal disease, liver biopsy is indicated (2).

In half of our patients, the risk factors for development of PVT could not be elicited from the medical history and laboratory. Similarly, in literature, predisposing conditions for PVT are obscure in more than half of the cases; in other cases umbilical vein catheterization, omphalitis, and sepsis are most commonly incriminated in children (3,4). None of our patients had omphalitis nor sepsis, but five patients had a history of umbilical catheterization. Because neonatal PVT is often asymptomatic, the diagnosis is often an incidental finding of imaging performed for other indications. PVT during the childhood period can be described by the presence of prothrombotic disorders, such as factor V Leiden mutation, Protein C, Protein S and antithrombin III deficiency (4).

In our study, two patients had low levels of Protein C: which were 46-48%. Plasma levels of Protein C below 50% (normal range, 70-110%) are associated with the risk of thrombotic complications (13). It is well known that Protein C level may be temporary low, due to several factors including vitamin K deficiency or acute thrombus and may not reveal hereditary deficiency; repeating the test may be necessary. Unfortunately our patients had only one measurement for Protein C. One of our patients had a homozygous mutation of Factor V Leiden, and had additional Prothrombin G2020A (heterozygous) mutation. Antithrombin III, Protein C and Protein S deficiency are defined as 'high risk thrombophilia' whereas carrier status of Factor V Leiden and Prothrombin G2020A mutations are defined as 'low risk thrombophilia' (13-14). Homozygous individuals for Factor V Leiden have a higher risk of thrombosis (13-14). It is important to declare that none of our patients with thrombophilia developed additional thrombi during the follow-up period.

Our laboratory also include other, less well

established polymorphisms in its thrombophilia panel, such as MTHFR 677TT and PAI-1 4G/5G. Four patients had PAI-1 polymorphism (4G/5G) and five had heterozygous mutation of MTHFR 677TT. PAI-1 is the main regulator of endogenous fibrinolysis. Several studies have been performed on PAI-1 polymorphisms and it is shown to be related to several diseases including osteonecrosis (15) and diabetes mellitus (16), probably by causing micro-vascular complications. Association of PAI-1 polymorphism with VTE is limited (17). In a recent study on childhood thrombosis, none of patients had PAI-1 polymorphism with elevated serum PAI-1 activity (18). The lack of our study is the measurement of PAI-1 activity. Further studies are needed to analyze the association of PAI-1 and thrombosis, particularly PVT in this context. In a recent metaanalysis (19), it is established that there is no significant association with venous thromboembolism and homozygous C677TMTHFR mutations.

Portal vein thrombosis after splenectomy has been reported (20). Nevertheless, none of our patients had splenectomy.

Anticoagulation and thrombolytic treatment is controversial in PVT. In neonates with acute,

occlusive PVT and no contraindication, 6-12 weeks of anticoagulation is reasonable (4). After the acute period, during late infancy and childhood, in patients who are at risk for bleeding or for non-occlusive PVT; supportive care, and serial ultrasound monitoring may be appropriate. Anticoagulation is not indicated for PC due to high rate of variceal bleeding. Paliative therapies includes beta adrenergic antagonists, endoscopic variceal band ligation or endoscopic sclerotherapy (4). In our study group seven patients received propranolol treatment and five received low molecular weight heparin.

In conclusion, PVT during childhood is rare, it may present with thrombocytopenia, splenomegaly and esophageal varices bleeding. Doppler ultrasound for portal venous system is a noninvasive and easy method for diagnosis. The catheterization of the umbilical vein has now long been implicated as a cause for PVT presenting in childhood, and we recommend to get a detailed medical history in patients with PVT. Most of children with PVT do not have congenital thrombophilia. Considering risk of bleeding, anticoagulation is not encouraged in long term.

## REFERENCES

1. European Association for the Study of the Liver. Electronic address: easloffice@easloffice.eu. EASL Clinical Practice Guidelines: Vascular diseases of the liver. *J Hepatol.* 2016;64(1):179-202.
2. Valla DC, Cazals-Hatem D. Vascular liver diseases on the clinical side: definitions and diagnosis, new concepts. *Virchows Arch.* 2018;473(1):3-13.
3. Giouleme O, Theocharidou E. Management of portal hypertension in children with portal vein thrombosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013;57(4):419-25.
4. Kumar R, Kerlin BA. Thrombosis of the Abdominal Veins in Childhood. *Front Pediatr.* 2017 Sep 5;5:188.
5. Gürakan F, Eren M, Koçak N, Yüce A, Ozen H, Temizel İN, Demir H. Extrahepatic portal vein thrombosis in children: etiology and long-term follow-up. *J Clin Gastroenterol.* 2004;38(4):368-72.
6. El-Karakasy HM, El-Koofy N, Mohsen N, Helmy H, Nabil N, El-Shabrawi M. Extrahepatic portal vein obstruction in Egyptian children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015;60(1):105-9.
7. Jain M, Jain J, Passi GR, Jain K, Jain S. Profile of extrahepatic portal venous obstruction among children in Central India. *Clin Exp Hepatol.* 2017;3(4):209-211.

8. Sokal EM, Van Hoorebeeck N, Van Obbergh L, Otte JB, Buts JP. Upper gastro-intestinal tract bleeding in cirrhotic children candidates for liver transplantation. *Eur J Pediatr.* 1992;151(5):326-8.
9. Sharara AI, Rockey DC. Gastroesophageal variceal hemorrhage. *N Engl J Med.* 2001;345(9):669-81. Review.
10. Radovich PA. Portal vein thrombosis and liver disease. *J Vasc Nurs.* 2000;18(1):1-5. Review.
11. Morag I, Epelman M, Daneman A, Moineddin R, Parvez B, Shechter T, Hellmann J. Portal vein thrombosis in the neonate: risk factors, course, and outcome. *J Pediatr.* 2006;148(6):735-9.
12. Rajpurkar M, Sharathkumar A, Williams S, Lau K, Ling SC, Chan AK Recommendations for the assessment of non-extremity venous thromboembolism outcomes: communication from the SSC of the ISTH. *Pediatric/ Neonatal Hemostasis and Thrombosis Scientific and Standardization Subcommittee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis.* *J Thromb Haemost.* 2015;13(3):477-80.
13. Middeldorp S. Inherited thrombophilia: a double-edged sword. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2016; 2016: 1-9.
14. Celkan T, Dikme G. Thrombosis in children: Which test to whom, when and how much necessary? *Turk Pediatri Ars.* 2018;53(1):1-9.
15. Sobhan MR, Mahdinezhad-Yazdi M, Moghimi M, Aghili K, Jafari M, Zare-Shehneh M, Neamatzadeh H. Plasminogen Activator Inhibitor-1 4G/5G Polymorphism Contributes to Osteonecrosis of the Femoral Head Susceptibility: Evidence from a Systematic Review and Meta-analysis. *Arch Bone Jt Surg.* 2018;6(6):468-477.
16. Adly AA, Elbarbary NS, Ismail EA, Hassan SR. Plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1) in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: relation to diabetic micro-vascular complications and carotid intima media thickness. *J Diabetes Complications.* 2014;28(3):340-7.
17. Gohil R, Peck G, Sharma P. The genetics of venous thromboembolism. A meta-analysis involving approximately 120,000 cases and 180,000 controls. *Thromb Haemost.* 2009;102(2):360-370.
18. Mahajerin A, Obasaju P, Eckert G, Vik TA, Mehta R, Heiny M. Thrombophilia testing in children: a 7 year experience. *Pediatr Blood Cancer.* 2014;61(3):523-7.
19. Simone B, De Stefano V, Leoncini E. Risk of venous thromboembolism associated with single and combined effects of factor V Leiden, prothrombin 20210A and methylenetetrahydrofolate reductase C677T: a metaanalysis involving over 11,000 cases and 21,000 controls. *Eur J Epidemiol* 2013; 28: 621-47.
20. Winslow ER, Brunt ML, Drebin JA, et al. Portal vein thrombosis after splenectomy. *Am J Surg.* 2002;184:631-636.



## Cytomegalovirus (CMV) screening results in pregnant women admitted to a tertiary center in the Middle Anatolia

### Orta Anadolu bölgesinde tersiyer bir merkeze başvuran gebelerde Sitomegalovirüs (CMV) tarama sonuçları

Özgür KAN<sup>1</sup>, Özgür KOÇAK<sup>1</sup>

#### ABSTRACT

**Objective:** Human cytomegalovirus (CMV) is a common cause of mother-to-child infection that may lead to severe long-term sequelae in affected infants and is the most common non-genetic cause of hearing loss. CMV prevalence is reported to be higher in developing countries and seroprevalence varies between countries and even regions. The aim of this study was to evaluate the seroprevalence of CMV in pregnant women who applied to regional reference hospital and to investigate the efficacy of antenatal CMV screening.

**Methods:** A total of 3362 patients admitted to a university hospital pregnant outpatient clinic between January 2016 and September 2018 were included in the study. After serological examination, avidity test was performed in cases with results suggestive of active infection. Amniocentesis was recommended to patients with low avidity and these patients were evaluated by Polymerase Chain Reaction (PCR) method.

**Results:** The frequency of CMV immunoglobulin

#### ÖZET

**Amaç:** Anneden çocuğa geçen enfeksiyonların önemli bir nedeni olan insan sitomegalovirüsü (CMV), etkilenen bebeklerde uzun dönemde ciddi sekellere yol açabilir ve yenidoğanlarda genetik olmayan konjenital işitme kaybının en yaygın nedenini oluşturmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde CMV prevalansının gelişmiş ülkelere oranla daha yüksek olduğu bilinmektedir ve seroprevalansın ülkeler, hatta bölgeler arasında dahi ciddi farklılık gösterdiği bildirilmektedir. Bu çalışmanın amacı, bir bölge referans hastanesine başvuran gebe kadınlarda CMV seroprevalansının değerlendirilmesi ve gebelik sırasında CMV taramasının etkinliğinin araştırılmasıdır.

**Yöntem:** Ocak 2016 ile Eylül 2018 tarihleri arasında bir üniversite hastanesi gebe polikliniğine ayaktan başvuran toplam 3362 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Serolojik inceleme sonrasında aktif enfeksiyon olduğu düşünülen olgularda avidite testi uygulanmıştır. Bu test sonucu düşük avidite izlenen olgulara invaziv amniyosentez işlemi önerilmiştir ve alınan örnekler Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) metodu ile incelenmiştir.

**Bulgular:** CMV immunoglobulin (Ig) G ve Ig M seropozitiflik

<sup>1</sup>Hitit University, Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Çorum



İletişim / Corresponding Author : Özgür KAN

Hitit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD 19100 Çorum - Türkiye  
Tel : +90 0533 351 69 69 E-posta / E-mail : drozgurkan@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 02.07.2019  
Kabul Tarihi / Accepted : 20.08.2019

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2019.55631

Kan Ö, Koçak Ö. Cytomegalovirus (CMV) screening results in pregnant women admitted to a tertiary center in the middle Anatolia. Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(4): 423-430

(Ig G and M seropositivity rates were 96.40% and 1.75%, respectively. According to avidity test results of patients with CMV infection; low, intermediate and high avidity levels were found in 10 (20.83%), 3(6.25%) and 35 (72.91%) patients, respectively. PCR analysis results showed primary infection in 3 of the cases with low avidity. Only one infant had signs of congenital CMV infection at the time of birth.

**Conclusion:** Although routine CMV screening in pregnancy is not recommended due to lack of adequate studies on the validity of treatment and cost-effectiveness, serological examination may be beneficial especially in risky groups in developing countries. Further studies on vaccination and anti-viral therapy may provide more comprehensive information about the necessity and efficacy of screening.

**Key Words:** CMV, congenital infection, pregnancy, screening, serology

oranları sırasıyla %96,40 ve %1,75 olarak bulunmuştur. CMV enfeksiyonu düşünülen hastalardaki avidite test sonuçları incelendiğinde 10 (%20,83) olguda düşük avidite, 3 (%6,25) olguda ara düzeyde avidite ve 35 (%72,91) olguda yüksek avidite olduğu izlenmiştir. Düşük avidite saptanan 10 olguda yapılan PCR analiz sonucunda bu hastaların üçünde akut primer enfeksiyon bulguları gözlenmiştir. Doğum sonrası yapılan muayenelerde bu yenidoğanların birinde konjenital CMV enfeksiyonu bulguları saptanmıştır.

**Sonuç:** CMV enfeksiyonunun tedavisinde kullanılan ajanların gerek maliyet, gerek terapötik etkinliği ile ilgili yeterli çalışma bulunmaması nedeniyle gebelikte rutin CMV taraması önerilmemektedir. Ancak, özellikle gelişmekte olan ülkelerdeki riskli gruplarda serolojik değerlendirme faydalı olabilir. Aşı ve anti-viral tedavi hakkında yapılacak sonraki geniş kapsamlı çalışmalar ile taramanın gerekliliği ve etkinliği hakkında daha fazla bilgi sahibi olunabilir.

**Anahtar Kelimeler:** CMV, konjenital enfeksiyon, gebelik, tarama, seroloji

## INTRODUCTION

Human cytomegalovirus (CMV) is an enveloped, double-stranded DNA virus within the family of  $\beta$ -herpesviruses. It is affecting approximately 40,000 infants each year in the United States and is the leading non-genetic cause of congenital hearing loss (1, 2). The prevalence of congenital infection varies significantly between regions and countries, and as is known, higher rates are observed in developing countries. A systematic review of birth prevalence of congenital CMV in developing countries included 11 studies with sample sizes ranging from 317 to 12,195 and reported rates from 0.6% to 6.1% (3). In a study conducted in Turkey that included almost 1000 patients, the seroprevalence has been reported to be 1.9% (4).

Maternal acquisition of infection might resemble from multiple ways including sexual and non-sexual contact, blood products and organ transplant (5). Although the infection is often asymptomatic or vague, it may present with flu-like symptoms including fever, myalgia, lymphadenopathy and fatigue. After causing primary infection, viral components can be found in many body fluids such as urine, saliva, vaginal secretions and breast milk for months (6).

Congenital infections are the result of transplacental transmission of CMV and infection might occur due to primary CMV infection, re-infection with a new strain of CMV or re-activation of latent infection (7, 8). While most of the infected neonates have no signs of infection, sensorineural

type hearing loss, visual disorders and impaired psychomotor development will occur in 5 to 10% percent of this newborns (9, 10). Symptoms such as intrauterine growth restriction (IUGR), microcephaly, thrombocytopenia, anemia and jaundice develop in %10-15 in severely affected cases. The most important causes of mortality in these neonates are disseminated intravascular coagulation, hepatic insufficiency and concomitant infections (11, 12).

Diagnosis of congenital infection can be made by isolation of virus with culture techniques, detection of CMV antibodies in serological tests and identification of CMV-DNA by PCR from various samples (13, 14). Serological tests, which can also be used for screening, are frequently used among these methods. Primary infection diagnosis is based on detection of immunoglobulin (Ig) G in the serum of the patient who was previously seronegative or detection of Ig M antibodies with low Ig G avidity (15).

At present, antenatal CMV screening necessity remains controversial due to lack of suitable vaccines and treatment. In addition, differences between seropositivity rates among regions and countries deepen this uncertainty. However, recent studies demonstrated benefits of early diagnosis and prospective success of antiviral therapy in congenital CMV cases. The aim of this study was to evaluate the seroprevalence of CMV in pregnant women who applied to regional reference hospital and to investigate the possible profits and handicaps of antenatal CMV screening.

## MATERIAL and METHOD

We retrospectively reviewed patients who applied for pregnancy follow-up in a university obstetrics outpatient clinic between January 2016 and September 2018. After obtaining approval from the hospital institutional review board (reference number: 2019-146), demographic data and clinical characteristics of the patients were collected from patient charts and hospital records. Written informed

consent for all of the gynecological interventions was obtained for future use. The study was conducted according to the principles of the World Medical Association Declaration of Helsinki (Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, amended in October 2013).

A total of 3362 patients with intrauterine pregnancy at first trimester were included in this study. Intrauterine pregnancy diagnose was made by ultrasound and recorded in hospital database. Demographical features including patients' age, obstetrical history and comorbidities at the first prenatal visit were reviewed from patient files.

CMV IgG and IgM antibodies were tested according to clinical standard application and pregnancy follow-up protocol on the first prenatal visit after fetal heart beat was observed. CMV electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) (Elecsys, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) was utilized to measure antibody titers. The tests were performed on the Cobas 6000 analyzer. According to manufacturer's instructions, values of IgG and IgM levels greater than 6 IU/ml and 1 IU/ml were regarded as positive, respectively.

Women who had high levels of CMV IgG and IgM levels were additionally tested with avidity test to determine whether acute or chronic infection. While, avidity index greater than 0.65 for CMV Ig G was regarded as high avidity, less than 0.40 was regarded as low avidity and used as a potential marker for acute infection. All positive test results were reevaluated and controlled. Values between 0.40 and 0.65 were considered as intermediate values and necessary further investigations were made.

All data analyses were performed using SPSS (Statistical Packages for The Social Sciences) software, version 22.0 (SPSS Inc., Chicago, USA). Numbers and percentages were used as descriptive statistical methods in evaluating the data.

## RESULTS

The mean age of the patients who applied to a tertiary care hospital between January 2016 and December 2018 was 25.4 years (range 15-44). The frequency of CMV IgG and IgM seropositivity was found to be 96.40% and 1.75%, respectively (Table 1). Only one patient had IgM seropositivity with negative IgG result. In this case, repeated IgM test result was reported as negative. When avidity test was performed in both IgG and IgM positive 48 patients; low, intermediate and high avidity levels were found in 10, three and 35 patients, respectively. Nine patients were lost to follow-up and data about

these patients could not be reached. All intermediate avidity antibody test results (n=3) were repeated and later confirmed as high avidity.

Ten patients with low avidity were recommended for perinatology referral and PCR DNA analysis with amniocentesis and eight patients were accepted for invasive testing. Three were found to have positive test results for PCR. In one of these patients, IUGR developed and in another case, sonographic examination performed at 24th week showed megacysterna magna and periventricular echogenicity and this neonate diagnosed as congenital CMV infection (Figure 1).

Table 1. CMV IgG and M seropositivity rates by years

Years	Total Test n	CMV IgG (+) n (%)	CMV IgM (+) n (%)
2016	1587	1504 (94.77%)	26 (1.63%)
2017	1044	1016 (97.31%)	20 (1.91%)
2018	731	721 (98.63%)	13 (1.77%)
Total	3362	3241 (96.40%)	59 (1.75%)

Abbreviations: CMV; cytomegalovirus, IG; immunoglobulin

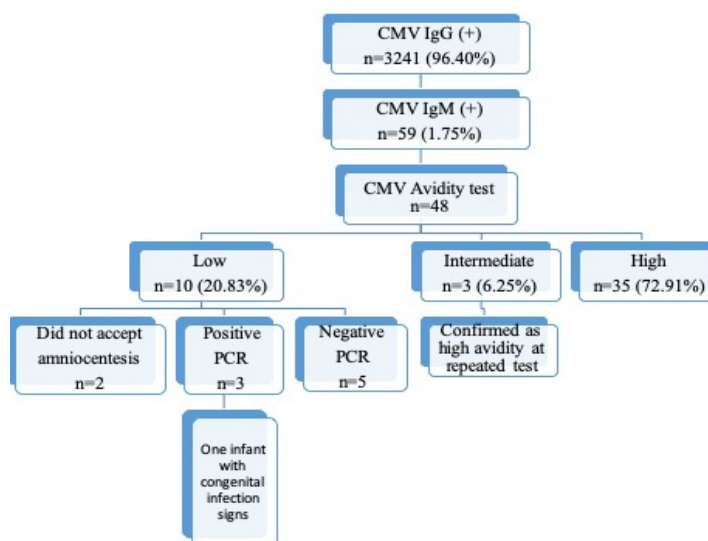


Figure 1. Flowchart for CMV screening

## DISCUSSION

Our data demonstrated the seroprevalence and epidemiology of CMV infection in the mid-northern region of Turkey. We examined retrospectively data of more than 3,000 pregnant women and found that the seroprevalence of CMV was 96.40% in our cohort, which is similar to previous reports from Turkey (16-18). It is well known that seropositivity rates are higher in developing countries. As a result of high seroprevalence, a large supply of CMV continuously exists in the population. Among the reasons behind the higher rates of CMV seropositivity compared to developed countries, crowded family life, inadequate infrastructure and low socioeconomic status are major subjects (7).

CMV IgM positivity rates also vary in population based studies. Similar to our results, Aynioğlu et al. reported that IgM positivity in their study population was 2% (19). In another study from eastern region of Turkey, authors found 1.7% positivity rates for IgM (20). In explaining these high rates, the authors also highlighted the impact of low socioeconomic status and especially the impact of family life with more children.

In addition to serological tests, imaging examinations are frequently used as an important tool for screening congenital CMV infection. Studies have shown that sonographic abnormalities, such as intracranial calcification, IUGR, periventricular echogenities, ventriculomegaly and microcephaly are essential signs for congenital CMV prediction (21, 22). In our study, the fetus with periventricular echogenicity and mega cisterna magna during antenatal sonography was diagnosed as congenital CMV after birth. Although IUGR was observed in another case, the neonate was not significantly affected by CMV infection in postnatal examination. Since there are many factors affecting intrauterine growth and enlargement, IUGR related signs have lower sensitivity for congenital CMV diagnosis

antenatally. Nevertheless, it should be noted that in case of monitoring these abnormalities in sonography, intrauterine infections should be considered and evaluated regardless of seropositivity.

An important feature of this study is that it analyzes the results of congenital CMV screening of more than 3000 pregnant patients. As mentioned earlier, CMV affects 0.2-2.2% of all neonates and only 5-10% of that newborns are symptomatic at birth (23, 24). In our study, it was observed that seroprevalence of congenital CMV rates was in support of these classical data. Although high seroprevalence in society is thought to be protective for symptomatic infection, its efficacy for predicting long-term effects is limited (25). In the same study, the authors reported a positive correlation between high seroprevalence and congenital infection and explained this paradoxical condition with increased risk of infection due to viral load in the host.

Although congenital CMV infection is the most common non-genetic cause of deafness and one of the main causes of neurological sequelae in neonates, opinions about screening are contradictory in the literature. The underlying reason for this condition is that the serological evaluation is insufficient in special circumstances, screening is not cost effective and the treatment options are limited in a possible diagnosis. As known, gold standard method for primary CMV infection diagnosis is the detection of IgG seroconversion. Since it is not known how long this IgG positivity occurs before pregnancy, IgM test is applied to secure the diagnosis. Therefore, tests for maternal serum CMV IgM are commonly used to identify primary CMV infection. However, due to long persistence in the host and detection during latent CMV reactivation, sensitivity of CMV IgM for detecting primary infection is only 20-25% (26). Therefore, IgG avidity test is applied especially in discrimination between active and reactivation of latent infection. The avidity test is based on measuring the binding

affinity of IgG antibodies to IgG antigens. Its index increases over time and while low levels of avidity indicate recent infection, high levels point out previous CMV infections (27). Studies have demonstrated that CMV IgG avidity index is a notable tool to predict congenital infection (21, 28). Although the applicability of screening programs is difficult, some groups have reported that nearly 80% of the cases can be caught by screening (29). As Sert et al. indicated in their comprehensive analysis, it may be recommended to screen particular groups, including patients with flu-like symptoms, with abnormalities in sonographic examination and patients contact and work with children (30). Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) also do not recommend routine screening of all pregnant women for evidence of primary CMV infection at this time (31). In addition to the lack of sufficient studies and lack of evidence to demonstrate the effectiveness of the screening tests mentioned earlier, SMFM underlined the possible harmful side effects and unnecessary interventions due to routine screening.

As mentioned earlier, studies on antenatal CMV treatment efficacy and side effect profile are limited. The use of CMV hyperimmunglobulin (HIG) was evaluated in the CHIP study and did not show a significant reduction in congenital infection (2).

The study also showed a non-significant increase in adverse effects including preeclampsia and IUGR in HIG arm of the study population. Antiviral therapy of infected fetuses has been studied in small series and case reports. In a observational study, the authors reported that administration of valacyclovir in pregnant women with fetal CMV might decrease viral loads and provide therapeutic effect (32). In another study, supportive of the previous data, the use of oral ganciclovir showed that the viral load in the amniotic fluid was reduced and the newborn was born without congenital infection (33). In light of these data, any antenatal therapy, either with anti-virals or HIG, should only be offered as part of a research protocol (31).

In conclusion, although universal guidelines do not recommend routine screening for CMV during pregnancy, identification of risky groups especially in countries with high seroprevalence can provide improved antenatal results. Maternal flu-like symptoms and essential findings in sonographic examination during antenatal follow-up may be useful in determining risk groups. With the increasing number of studies showing the effectiveness of anti-viral treatment and analyzing the side effects more precise, the necessity of screening programs will be revealed more clearly.

## REFERENCES

1. Dunn-Navarra AM, Stockwell MS, Meyer D, Larson E. Parental health literacy, knowledge and beliefs regarding upper respiratory infections (URI) in an urban Latino immigrant population. *J Urban Health*, 2012; 89: 848-60.
2. Revello MG, Lazzarotto T, Guerra B, Spinillo A, Ferrazzi E, Kustermann A, et al. CHIP Study Group. A randomized trial of hyperimmune globulin to prevent congenital cytomegalovirus. *N Engl J Med*, 2014; 370: 1316-26.
3. Lanzieri TM, Dollard SC, Bialek SR, Grosse SD. Systematic review of the birth prevalence of congenital cytomegalovirus infection in developing countries. *Int J Infect Dis*, 2014; 22: 44-8.
4. Sahiner F, Cekmez F, Cetinkaya M, Kaya G, Kalayci T, Gunes O, et al. Congenital cytomegalovirus infections and glycoprotein B genotypes in live-born infants: a prevalence study in Turkey. *Infect Dis (Lond)*, 2015; 47 (7): 465-71.
5. Ross SA, Arora N, Novak Z, Fowler KB, Britt WJ, Boppana SB. Cytomegalovirus reinfections in healthy seroimmune women. *J Infect Dis*, 2010; 201(3): 386-9.
6. Noyola DE, Demmler GJ, Williamson WD, Griesser C, Sellers S, Llorente A, et al. Cytomegalovirus urinary excretion and long term outcome in children with congenital cytomegalovirus infection. *Congenital CMV Longitudinal Study Group. Pediatr Infect Dis J*, 2000; 19(6): 505-10.
7. Kenneson A, Cannon MJ. Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (CMV) infection. *Rev Med Virol*, 2007; 17(4): 253-76.
8. Revello MG, Tibaldi C, Masuelli G, Frisina V, Sacchi A, Furione M, et al. Prevention of primary cytomegalovirus infection in pregnancy. *EBioMedicine*, 2015; 2(9): 1205-10.
9. Boppana SB, Pass RF, Britt WJ, Stagno S, Alford CA. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection: neonatal morbidity and mortality. *Pediatr Infect Dis J*, 1992; 11(2): 93-9.
10. Lazzarotto T, Varani S, Guerra B, Nicolosi A, Lanari M, Landini MP. Prenatal indicators of congenital cytomegalovirus infection. *J Pediatr*, 2000; 137 (1): 90-5. doi: 10.1067/mpd.2000.107110.
11. Nigro G, Mazzocco M, Anceschi MM, La Torre R, Antonelli G, Cosmi EV. Prenatal diagnosis of fetal cytomegalovirus infection after primary or recurrent maternal infection. *Obstet Gynecol*, 1999; 94: 909-14.
12. Pass RF. Cytomegalovirus infection. *Pediatr Rev*, 2002; 23: 163-70.
13. Lazzarotto T, Guerra B, Gabrielli L, Lanari M, Landini MP. Update on the prevention, diagnosis and management of cytomegalovirus infection during pregnancy. *Clin Microbiol Infect*, 2011; 17(9): 1285-93.
14. Ross SA, Novak Z, Pati S, Boppana SB. Overview of the diagnosis of cytomegalovirus infection. *Infect Disord Drug Targets*, 2011; 11(5): 466-74.
15. Sonoyama A, Ebina Y, Morioka I, Tanimura K, Morizane M, Tairaku S, et al. Low IgG avidity and ultrasound fetal abnormality predict congenital cytomegalovirus infection. *J Med Virol*, 2012; 84(12): 1928-33.
16. Tamer GS, Dundar D, Caliskan E. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, rubella and cytomegalovirus among pregnant women in western region of Turkey. *Clin Invest Med*, 2009; 32: 43-7.
17. Ocak S, Zeteroglu S, Ozer C, Dolapcioglu K, Gungoren A. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, rubella and cytomegalovirus among pregnant women in Southern Turkey. *Scand J Infect Dis*, 2007; 39: 231-4.
18. Uyar Y, Alci A, Akcali A, Cabar C. Prevalance of rubella and cytomegalovirus antibodies among pregnant women in northern Turkey. *New Microbiol*, 2008; 31: 451-5.
19. Aynioglu A, Aynioglu O, Altunok ES. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, Rubella and Cytomegalovirus among pregnant females in north-western Turkey. *Acta Clin Belg*, 2015; 70 (5): 321-4.

20. Efe Ş, Kurdoğlu Z, Korkmaz G. Van Yöresindeki Gebelerde Sitomegalovirüs, Rubella ve Toksoplazma Antikorlarının Seroprevalansı. *Van Tıp Derg*, 2009; 16: 6-9.
21. Sonoyama A, Ebina Y, Morioka I, Tanimura K, Morizane M, Tairaku S, et al. Low IgG avidity and ultrasound fetal abnormality predict congenital cytomegalovirus infection. *J Med Virol*, 2012; 84 (12): 1928-33.
22. Malinger G, Lev D, Lerman-Sagie T. Imaging of fetal cytomegalovirus infection. *Fetal Diagn Ther*, 2011; 29 (2): 117-26.
23. Dollard SC, Grosse SD, Ross DS. New estimates of the prevalence of neurological and sensory sequelae and mortality associated with congenital cytomegalovirus infection. *Rev Med Virol*, 2007; 17 (5): 355-63.
24. Stagno S, Pass RF, Dworsky ME, Alford CA. Congenital and perinatal cytomegalovirus infections. *Semin Perinatol*, 1983; 7 (1): 31-42.
25. Sahiner F, Honca M, Çekmez Y, Kubar A, Honca T, Fidancı MK, et al. The role of maternal screening in diagnosing congenital cytomegalovirus infections in highly immune populations. *Ir J Med Sci*, 2015; 184 (2): 475-81.
26. Revello MG, Fabbri E, Furione M, Zavattoni M, Lilleri D, Tassis B, et al. Role of prenatal diagnosis and counseling in the management of 735 pregnancies complicated by primary human cytomegalovirus infection: A 20-year experience. *J Clin Virol*, 2011; 50: 303-7.
27. Grangeot-Keros L, Mayaux MJ, Lebon P, Freymuth F, Eugene G, Stricker R, et al. Value of cytomegalovirus (CMV) IgG avidity index for the diagnosis of primary CMV infection in pregnant women. *J Infect Dis*, 1997; 175(4): 944-6.
28. Ebina Y, Minematsu T, Sonoyama A, Morioka I, Inoue N, Tairaku S, et al. The IgG avidity value for the prediction of congenital cytomegalovirus infection in a prospective cohort study. *J Perinat Med*, 2014; 42: 755-9.
29. Naessens A, Casteels A, Decatte L, Foulon W. A serologic strategy for detecting neonates at risk for congenital cytomegalovirus infection. *J Pediatr*, 2005; 146 (2): 194-7.
30. Sert Y, Ozgu-Erdinc AS, Saygan S, Engin Ustun Y. Antenatal Cytomegalovirus Infection Screening Results of 32,188 Patients in a Tertiary Referral Center: A Retrospective Cohort Study. *Fetal Pediatr Pathol*, 2019; 38 (2): 112-20.
31. Hughes BL, Gyamfi-Bannerman C. Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM): Diagnosis and antenatal management of congenital cytomegalovirus infection. *Am J Obstet Gynecol*, 2016; 214: 5-11.
32. Jacquemard F, Yamamoto M, Costa JM, Romand S, Jaqz-Aigrain E, Dejean A, et al. Maternal administration of valaciclovir in symptomatic intrauterine cytomegalovirus infection. *BJOG*, 2007; 114: 1113-21.
33. Puliyanada DP, Silverman NS, Lehman D, Vo A, Bunnapradist S, Radha RK, et al. Successful use of oral ganciclovir for the treatment of intrauterine cytomegalovirus infection in a renal allograft recipient. *Transpl Infect Dis*, 2005; 7: 71-4.



## Çorum ilinde hemşirelik öğrencilerinin kist hidatik hakkındaki bilgi düzeyleri ve tutumları

### Knowledge and attitudes of nursing students about cystic hydatid in Çorum Province

Gülay YILMAZEL<sup>1</sup>, Derya YAPAR<sup>2</sup>, Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN<sup>2</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Kistik ekinokokkoz dünyada olduğu gibi ülkemizde de yaygın görülen, sağlık ve ekonomik açıdan yük getiren önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bu çalışmanın amacı hemşirelik öğrencilerinin kistik ekinokokkoz hakkındaki bilgi düzeylerini ve tutumlarını belirlemektir.

**Yöntem:** Kesitsel tipteki bu araştırma, Şubat-Mayıs 2016 tarihleri arasında Çorum ilinde yapıldı. Hitit Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu'nun hemşirelik bölümünde öğrenim gören gönüllü ve ulaşılabilen 364 öğrenci örneklem kapsamına alındı. Araştırmanın verileri, üç aşamalı bir anket formu ile toplandı. Anket formunun ilk aşaması tüm öğrencilere yönelik olup bu aşamada öğrencilerin sosyo-demografik özellikleri yer aldı. Anket formunun ikinci aşaması ise kistik ekinokokkoz hastalığını bildiğini belirten öğrencilere yönelik olup öğrencilerin kistik ekinokokkoz ile ilgili bilgi düzeylerinin değerlendirilmesi amacıyla hazırlandı. Öğrencilerin kistik ekinokokkoz ile ilgili tutumlarının incelenmesinde belirleyici olan "köpeğiniz var mı?" sorusu oldu. Araştırmanın verileri SPSS 17.0 paket programında değerlendirildi. Kategorik değişkenlerin analizinde Ki-kare testi kullanıldı. Bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişki lojistik regresyon analizi ile belirlendi. P<0.05 değeri istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi.

#### ABSTRACT

**Objective:** Hydatid cyst is a major public health problem which brings health and economic burden and it is seen commonly in Turkey as in the world. The aim of this study is to determine knowledge levels, attitudes and practices about hydatid cyst in nursing students.

**Methods:** This cross-sectional research was conducted between 1 February-31 May 2016 in Çorum. Sample of study was included 364 volunteer nursery students. The data were collected via a three-phase questionnaire form. The first phase included socio-demographic characteristics for all students. The second phase was prepared to evaluate level of knowledge on hydatid disease. The question "have you a dog?" was decisive in the analysis of cystic echinococcosis-related attitudes and practices of students. Data were assessed using SPSS 17.0 package program. In the analysis of categorical variables the Chi-square test was used. Binary logistic regression analysis was used to determine the relationship between the dependent and independent variables. P<0.05 was considered statistically significant.

**Results:** Of the students, 75.5% were between the

<sup>1</sup>Hitit Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Çorum  
<sup>2</sup>Hitit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çorum



İletişim / Corresponding Author : Gülay YILMAZEL

Hitit Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi 19000 Çorum - Türkiye

Tel : +90 534 221 10 39

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

Geliş Tarihi / Received : 25.05.2018

Kabul Tarihi / Accepted : 19.01.2019

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2019.95826

Yılmazel G, Yapar D, Taylan-Özkan A. Çorum ilinde hemşirelik öğrencilerinin kist hidatik hakkındaki bilgi düzeyleri ve tutumları  
Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(4): 431-440

**Bulgular:** Araştırmada öğrencilerin %75,5'i 18-21 yaş aralığında olup yaş ortalamaları  $20,33 \pm 1,84$  yıldır. Öğrencilerin %63,7'si kız ve %36,3'ü erkektir. Birinci sınıfta öğrenim görenlerin oranı %37,9; dördüncü sınıfta öğrenim görenlerin oranı %19,8'dir. "Kistik ekinokokkoz hastalığını biliyor musunuz" sorusuna "evet" yanıtı verenlerin oranı %28,3'dür. Kistik ekinokokkoz hastalığını bildiğini belirten öğrencilerden %72,8'i hastalığın karaciğeri etkilediğini; %97,1'i hastalığın gastrointestinal belirtilerinin olduğunu; %82,5'i hastalığın su ve besinlerle insanları enfekte ettiğini belirtmiştir. Öğrencilerin %72,9'u ekinokokkoz için esas konak olarak köpeği göstermiştir. Araştırma grubunda köpeği olan öğrencilerin oranı %13,2 olup bu öğrenciler arasında köpeğinin yaşam alanlarında (evlerinde) bulunduğunu belirtenlerin oranı %27,1'dir. Hastalığın bilinmesi sınıflar arasında farklıdır, annesi çalışanlarda, annesi ev hanımı olanlara göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Lojistik regresyon modeli sonuçlarına göre öğrencilerin kistik ekinokokkoz hastalığını bilmemesi birinci sınıf öğrencilerinde 4,2 kat; üçüncü sınıf öğrencilerinde 3,1 kat; annesi ev hanımı olanlarda 4,9 kat daha yüksekti ( $p < 0,001$ ).

**Sonuç:** Çalışmamızda öğrencilerin yaklaşık üçte birinin kistik ekinokokkoz hastalığını bildiği belirlenmiştir. Kistik ekinokokkozise yönelik öğrencilerin bilgi düzeylerinin düşük, hastalığın erken tanısına yönelik tutumlarının olumlu, hastalığın önlenmesi ve kontrol altına alınması açısından yaptıkları uygulamaların yetersiz olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar ışığında müfredat programları dışında da hemşire adaylarına belirli aralıklarla hastalıkla ilgili sürekli ve güçlendirilmiş davranış değiştirici sağlık eğitimlerinin verilmesi önerilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Kistik ekinokokkoz, bilgi, tutum, hemşirelik öğrencileri, Çorum

age range of 18-21 and the mean age was  $20.33 \pm 1.84$  years. In the study, 63.7% were female and 36.3% were male, 37.9% were in first grade and 19.8% were in the fourth grade. The "yes" response rate was 28.3% to the question "do you know hydatid cyst?". Among the students who stated that they knew the disease 72.8% showed as liver disease, 97.1% said disease had gastrointestinal symptoms and 82.5% said that people would be infected with water and food. Dogs was shown as the main host for echinococ by 72.9% of students. Among the students, 13.2% had a dog and of the students 27.1% had a dog in their living areas (house). The rate of knowledge was significantly different between class and in working mother than housewives. According to the results of logistic regression model the risk of unknown of disease was 4.2 times higher in first grade and 3.1 times higher in third grade students than second grade students, 4.9 times higher in housewives than working mothers.

**Conclusion:** In our study, it was determined that approximately one third of the students knew cystic hydatid. Also students had low knowledge, positive attitudes for the early diagnosis of the disease and inadequate practices for the prevention and control of the disease. Outside of the curriculum, continuous and reinforced health education would be useful for candidate nursing students to modify their behaviors.

**Key Words:** Cyst hydatid, knowledge, attitude, nursing students, Çorum

## GİRİŞ

Hidatik veya kistik ekinokokkoz, insanları ve besi hayvanlarının sağlığını etkileyen özellikle gelişmekte olan ülkelerde ciddi morbidite ve ölümlere yol açan ihmal edilen zoonotik bir hastalıktır (1). Parazitik bir hastalık olan kistik ekinokokkoz, *Echinococcus granulosus*'un larva evresinde enfeksiyondan kaynaklanır. Parazitler, başlıca köpek-koyun-köpek döngüsü ile bulaşır. İnsanlar parazit yumurtaları ile kontamine olan su ve besin maddelerini tüketmelerinin yanı sıra konak hayvanlara direkt temas ile enfekte olabilir. İnsanların yakınında yaşayan kontrol altına alınmamış köpekler, besi hayvanlarının kontrolsüz kesimi ve sağlıksız yaşam koşulları insan enfeksiyonu için risk faktörleridir (1,2).

Zoonotik hastalıkların yeniden ortaya çıkışı halk sağlığı ile ilgilenen tüm profesyonellerin bir sorunudur (3,4). Ekinokokkoz, küresel ölçekte sık görülen ve yeniden ortaya çıkabilen bir zoonozdur. Kistik ekinokokkozun eliminasyonu ve kontrolü üzerine önemli çabalar sarfedilmesine rağmen hastalık oldukça önemli bir halk sağlığı problemi olarak kalmaya devam etmektedir (5). Epidemiyolojik açıdan incelendiğinde, hastalık dünya genelinde çoğunlukla kırsal alanlarda ve mera bölgelerinde yaygındır. Akdeniz, Kuzey Afrika, Doğu ve Güney Avrupa, Güney Amerika, Orta Asya, Sibirya ve Çin'in batısı yüksek endemik olduğu bölgelerdir. Bu bölgelerde yoksullar arasında artmış koyun yetiştiriciliği ve köpeklerin besi hayvanlarını korumada kullanılmaları yaygındır. Amerika'da ise endemik eyaletlerdeki göçmenlerde hastalık oranları yüksek bulunmuştur (1,2,6). Hastalık ülkelere sağlık sorununu ve ekonomik yükü beraberinde getirmektedir. Dünya genelinde bir milyonu aşan insanın hastalıktan etkilendiği, Yeti Yitimine Ayarlanmış Yaşam Yılı (DALY)'nda yıllık bir-üç milyon arasında kayıp ile sonuçlandığı ve hastalığın endemik olduğu bölgelerde insidansın yıllık yüzbin kişide 50 olduğu raporlanmıştır. Arjantin, Orta Asya, Çin, Güney Afrika ve Peru'nun bazı kesimlerinde prevalansın %5-10 olduğu tahmin edilmektedir

(1,5). Hastalar ve hayvancılık sektöründeki kayıplar nedeniyle kistik ekinokokkozun yıllık maliyeti üç milyar Amerikan Doları olarak tahmin edilmektedir (1). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2011 yılında yayınladığı "*Echinococcus granulosus* ve kistik ekinokokkoz dağılımı" haritasına göre Türkiye yüksek endemik bölge sınıfındadır (7). Ülkemizde 2005 yılından beri "C grubu" bildirim zorunlu hastalıklar listesinde yer alan ekinokokkoz toplumumuzda insanlarda ve özellikle de hayvanlarda yaygınlığı nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur. Görülme sıklığı değişken de olsa tüm bölgelerimizde yayılım göstermektedir. Hastalık yaş ve cinsiyet ayrımı gözetmemesine rağmen 30-50 yaş aralığında ve kadınlarda daha sıktır. Tedavide primer seçeneğin cerrahi yöntemler olması, ciddi işgücü kaybına sebep olmaktadır (8-10). T.C. Sağlık Bakanlığı kayıtlarında 1990-2005 yılları arasında 52.124 hastanın ameliyat edildiği belirtilmekte bu da yılda 3257 kistik ekinokoklu hastaya denk geldiğini göstermektedir (11). Ancak cerrahi operasyon geçirmeden tıbbi tedavi edilenler göz önüne alındığında bu rakam daha yüksek olacaktır. Epidemiyolojik çalışmaların sınırlı olması nedeniyle hastalığın prevalansını tam olarak yansıtan herhangi bir veri henüz mevcut değildir. Yetersiz hayvancılık uygulamaları, zayıf kesimhane şartları, düşük toplumsal farkındalık ülkemizde hastalığın görülme sıklığını artırabilir (12).

Dünyadaki ve ülkemizdeki boyutu göz önüne alındığında, hastalığın kontrolü ve eliminasyonunda mesleki bilgileri güncellenmiş sağlık personelinin yararlanılması önem taşımaktadır. Bu kapsamda hemşirelerden hasta tedavi ve bakımının yanı sıra bulaşıcı hastalık sürveyansı ile ilgili bilgileri yorumlayabilmesi ve halkı sağlıklı ilgili konularda eğitmesi beklenmektedir.

Bu çalışmanın amacı hemşirelik öğrencilerinin kistik ekinokokkoz hakkındaki bilgi düzeylerini ve tutumlarını belirlemektir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Kesitsel tipteki bu araştırma, 1 Şubat-31 Mayıs 2016 tarihleri arasında yapıldı. Araştırmanın evrenini Hitit Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu'nun hemşirelik bölümünde öğrenim gören 396 öğrenci oluşturdu. Çalışmaya katılmaya gönüllü ve ulaşılabilen 364 öğrenci alındı. Devamsız 32 öğrenci çalışma kapsamına alınmadı. Araştırmanın verileri, üç aşamalı bir anket formu ile toplandı. Anket formunun ilk aşaması tüm öğrencilere yönelik olup bu aşamada öğrencilerin sosyo-demografik özellikleri yer aldı. Anket formunun ikinci aşaması ise kistik ekinokokkoz hastalığını bildiğini belirten öğrencilere yönelik olup öğrencilerin kistik ekinokokkoz ile ilgili bilgi düzeylerinin değerlendirilmesi amacıyla hazırlandı. Öğrencilerin kistik ekinokokkoz ile ilgili tutum ve uygulamalarının incelenmesinde belirleyici olan "köpeğiniz var mı?" sorusu oldu. Araştırmanın bağımsız değişkenleri; öğrencilerin yaşları, cinsiyetleri, sınıf düzeyleri, anne ve babalarının eğitim durumu ve mesleği, uzun süreli olarak yaşadıkları yerdir. Öğrencilerin kistik ekinokokkoz hastalığı hakkındaki bilgi düzeylerini belirleyen "kistik ekinokokkoz hastalığını biliyor musunuz?" sorusu araştırmanın bağımlı değişkeni olarak seçildi. Araştırmanın verileri SPSS 17.0 paket programında değerlendirildi. Kategorik değişkenlerin analizinde Ki-kare testi kullanıldı. Hastalığın bilinmeme olasılığı üzerinde etkili olan faktörler lojistik regresyon analizi ile belirlendi. Hastalığın bilinmemesine yol açabileceği düşünülen değişkenler (sınıf ve anne eğitimi) modele alındı.  $P < 0.05$  değeri istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi. Çalışma Helsinki Prensiplerine uygun olarak yürütülmüş ve Hitit Üniversitesi Etik Kurulundan (2016-010) etik kurul onayı alınmıştır.

## BULGULAR

Araştırmada öğrencilerin %75.5'i 18-21 yaş aralığında olup yaş ortalamaları  $20.33 \pm 1.84$  .tür. Öğrencilerin %63.7'si kız ve %36.3'ü erkektir,

%37.9'u Birinci sınıfta %19.8'i dördüncü sınıfta öğrenim görmektedir. Öğrencilerin sosyo-demografik özellikleri Tablo 1'de sunulmuştur. Tablo 2'de katılımcıların kistik ekinokokkoz hakkındaki bilgileri sorgulanmıştır. "Kistik ekinokokkoz hastalığını biliyor musunuz" sorusuna "evet" yanıtını verenlerin sayısı 103 (%28.3)'tür. Kistik ekinokokkoz hastalığını bildiğini belirten öğrencilerden %72.8'i hastalığın karaciğeri etkilediğini, %97.1'i hastalığın gastrointestinal belirtilerinin olduğunu, %82.5'i hastalığın su ve besinlerle insanları enfekte ettiğini belirtmiştir. Öğrencilerin %60.2'si ekinokokkoz için esas konak olarak köpeği göstermiştir. Kistik ekinokokkozün öldürücü bir hastalık olduğunu belirtenler %45.6, tedavi edilebilir bir hastalık olduğunu belirtenler %67, köpeklerle oynayan kişilerin ekinokokkoz ile enfekte olabileceğini belirtenler %54.4'dür.

Tablo 3'de katılımcıların demografik özelliklerine göre kistik ekinokokkoz hastalığını bilme durumu gösterilmiştir. Hastalığın bilinmesi sınıflar arasında farklılık göstermektedir. ( $p < 0.001$ ), annesi çalışanlarda annesi ev hanımı olanlara göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Köpek sahipliği ile hastalığın bilinmesi arasında ilişki bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Katılımcıların kistik ekinokokkoz hastalığına yönelik tutumları Tablo 4'de verilmiştir. Araştırma grubunda köpeği olan öğrencilerin sayısı 48 (%13.2) olup bu öğrenciler arasında köpeğinin yaşam alanlarında (evlerinde) bulunduğunu belirtenler %27.1'dir. Köpeğini hayvan sakatları ile beslediğini belirtenler %41.6, köpeğinin veteriner kontrollerini düzenli yaptırmayanlar %47.9'dur. Öğrencilerin %58.3'ü köpeği ile ilgilendikten sonra her zaman ellerini yıkadığını, %79.2'si köpeği ile oyun oynadığını ifade etmiştir. Yakın zamanlarda genel tıbbi muayene olduğunu belirtenlerin oranı %56.3 olup bu öğrencilerden %63.0'ü düz grafi çektiğini belirtmiştir. Kistik ekinokokkoz taraması yaptırmayı isteyenler %81.3'dür. Lojistik regresyon modeli sonuçlarına göre hastalığın bilinmemesi birinci sınıf öğrencilerinde 4.2 kat (%95GA, 2,0-9,0), üçüncü sınıf öğrencilerinde 3.1 (%95GA 2,6-8,6)kat, annesi ev

hanımı olanlarda 4.9 kat (%95GA 2,6-9,2) yükseldi. İkinci sınıf öğrencilerinde hastalığı bilmeme %58 (%14-%79) daha azdır.

## TARTIŞMA

Zoonozlar yol açtığı salgınlar ve sağlık hizmetlerinde artmış maliyetler nedeniyle “ekonomik tehdit” olarak kabul edilmektedir (13-16). Bu gruptaki hastalıklardan olan kist hidatiğin korunma ve kontrol stratejilerinin uygulanabilir hale

gelmesi toplumun değişik kesimlerinin hastalıkla ilgili bilgi düzeylerinin artırılması ile mümkündür (17). Ülkemizde hemşire adaylarının kistik ekinokokkoz bilgi düzeyini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanılmadığından çalışmamız bu konuda örnek teşkil edecek ilk çalışmadır.

Kistik ekinokokkoz toplumun her kesiminin özellikle de sağlık personelinin bilmesi ve farkında olması gereken zoonozlardan biridir (Tablo 2). Nitekim Kocaeli’nde yapılan bir çalışmada hemşirelerin

Tablo 1. Katılımcıların sosyo-demografik özellikleri

Özellikler (n=364)	n*	%
<b>Yaş grupları (yıl) (20.33±1.84)</b>		
18-21	275	75.5
22 ve üzeri	89	24.5
<b>Cinsiyet</b>		
Erkek	132	36.3
Kız	232	63.7
<b>Sınıfı</b>		
I	138	37.9
II	67	18.4
III	87	23.9
IV	72	19.8
<b>Annenin eğitim düzeyi</b>		
Lise altında	246	67.6
Lise ve üzeri	118	32.4
<b>Annenin mesleği</b>		
Ev hanımı	245	67.3
Çalışan	119	32.7
<b>Babanın eğitim düzeyi</b>		
Lise altında	196	53.8
Lise ve üzeri	168	46.2
<b>Babanın mesleği</b>		
Kendi hesabına çalışan	153	42.0
Çiftçi	72	19.8
İşçi	71	19.5
Memur	68	18.7
<b>Uzun süreli yaşadığı yer</b>		
İl merkezi	174	47.8
İlçe merkezi	121	33.2
Köy/kasaba	69	18.9

Tablo 2. Katılımcıların kist hidatik hakkındaki bilgileri

Maddeler	Sayı	%
1. Kist hidatik hastalığını biliyor musunuz? (n=364)		
Evet	103	28.3
Hayır	261	71.7
2. Kist hidatik hangi doku ve organları etkiler? (n=103)*		
Karaciğer	75	72.8
Akciğer	35	34.0
Böbrek	19	18.4
Beyin	11	10.7
Dalak	10	9.7
Kalp	9	8.7
Diğer (kaslar ve kemikler)	15	14.6
3. Kist hidatik hastalığının belirtileri nelerdir? (n=103)*		
Gastrointestinal belirtiler	100	97.1
Abdominal ağrı ve dolgunluk	55	53.4
Diğer belirtiler (öksürük, ateş)	91	88.3
Bilmiyor	4	3.8
4. Kist hidatik hastalığının etkilediği hayvanlar hangileridir? (n=103)		
Koyun	26	25.2
Köpek	62	60.2
Kedi	14	13.6
At	12	11.6
Fare	11	10.6
Fikrim yok	18	17.5
5. Kist hidatik hastalığı insanları hangi yollarla enfekte eder?* (n=103)		
Su ve besinlerle	85	82.5
Hava yolu ile	21	20.4
Kan yolu ile	21	20.4
Cilt teması ile	14	13.6
6. Kist hidatik öldürücü bir hastalık mıdır? (n=103)		
Evet	47	45.6
Hayır	21	20.4
Bilmiyor	35	34.0
7. Kist hidatik tedavi edilebilir bir hastalık mıdır? (n=103)		
Evet	69	67.0
Hayır	18	17.5
Fikrim yok	16	15.5
8. Köpeklerle oynamak kişileri kist hidatik ile enfekte edebilir mi? (n=103)		
Evet	56	54.4
Hayır	15	14.6
Fikrim yok	32	31.1

**Tablo 3.** Katılımcıların sosyo-demografik özelliklerine göre kist hidatik hastalığının bilinme durumu

Özellikler	Toplam	Hastalığın bilinme durumu		p
	N	n	%	
<b>Yaş grupları (yıl)</b>				0.065
18-21	275	71	25.8	
22 ve üzeri	89	32	36.0	
<b>Cinsiyet</b>				0.075
Erkek	132	30	22.7	
Kız	232	73	31.5	
<b>Sınıfı</b>				0.000
I	138	30	21.7	
II	67	35	52.2	
III	87	12	13.8	
IV	72	26	36.1	
<b>Annenin eğitim düzeyi</b>				0.100
Lise altında	246	63	25.6	
Lise ve üzeri	118	40	33.9	
<b>Annenin mesleği</b>				0.010
Ev hanımı	255	62	24.3	
Çalışan	109	41	37.6	
<b>Babanın eğitim düzeyi</b>				0.900
Lise altında	196	56	28.6	
Lise ve üzeri	168	47	28.0	
<b>Babanın mesleği</b>				0.419
Kendi hesabına çalışan	153	41	26.8	
Çiftçi	72	23	31.9	
İşçi	71	16	22.5	
Memur	68	23	33.8	
<b>Uzun süreli yaşadığı yer</b>				0.082
İl merkezi	174	54	31.0	
İlçe merkezi	121	37	30.6	
Köy/kasaba	69	12	17.4	
<b>Köpek sahipliği</b>				0.841
Var	48	13	27.1	
Yok	316	90	87.4	

yaklaşık üçte ikisinin zoonozlarla ilgili kendi bilgi düzeyini ‘yetersiz’ gördüğü belirtilmiştir (18). Bu durum sağlıkla ilgili lisans eğitim programlarının yeniden gözden geçirilmesini, mezuniyet sonrasında da bulaşıcı hastalık eğitimlerine devam edilmesi

gerektiğini ortaya koymaktadır. Zoonozlar hakkında sağlık personelinin yetersiz bilgi düzeyi uluslararası çalışmalarla da desteklenmektedir. Kanada’da halk sağlığı personeline (19) ve Tanzanya’da genel pratisyenlerde (20) zoonotik hastalık bilgisinin düşük

**Tablo 4.** Katılımcıların sosyo-demografik özelliklerine göre kist hidatik hastalığının bilinme durumu

Maddeler	n	%
9. Köpeğiniz yaşam alanınızda (evinizde) mı?		
Evet	13	27.1
Hayır	35	72.9
10. Köpeğinizi sıklıkla ne ile beslersiniz?*		
Besin artıkları	34	70.8
Mama	28	58.3
Hayvan sakatları	20	41.6
11. Köpeğinizin veteriner kontrollerini düzenli yapıyor musunuz?		
Evet	25	52.1
Hayır	23	47.9
12. Köpeğinizle ilgilendikten sonra ellerinizi yıkıyor musunuz?		
Her zaman	28	58.3
Bazen/ara sıra	20	41.7
13. Köpeğinizle oyun oynar mısınız?		
Evet	38	79.2
Hayır	10	20.8
14. Yakın zamanlarda tıbbi muayenenizi yaptırdınız mı?		
Evet	27	56.2
Hayır	21	43.8
15. Tıbbi muayeneniz için hangi tarama testlerini yaptırdınız? (n=27)*		
Kan testleri	16	59.3
Düz grafi	17	63.0
Ultrasonografi	7	25.9

\*Katılımcılar birden fazla seçenek işaretlemişlerdir.

**Tablo 5.** Lojistik regresyon analizine göre hastalığın bilinmeme olasılığı

Değişkenler	OR	%95 Güven Aralığı
		Alt-Üst değerler
<b>Sınıf Düzeyi</b>		
I	4.22	1.98-8.98
II	0.423	0.21-0.86
III	3.127	2.57-8.62
IV	1	
<b>Annenin mesleği</b>		
Ev hanımı	4.870	2.56-9.25
Çalışan	1	



olması nedeniyle sürekli tıp eğitiminin gerekliliği vurgulanmıştır. Öte yandan, çeşitli ülkelerde farklı gruplarda yapılan çalışmalar hastalık bilgisinin düşük, tutum ve uygulamaların yetersiz olduğunu ortaya koymaktadır. Etiyopya'da genel toplum, mezbaha işçisi ve kasaplarda kistik ekinokokkoz bilgi seviyesinin düşük olduğu ve bu durumun bölgenin yüksek hastalık prevalansına sahip olmasının bir göstergesi olduğu ifade edilmiştir (21). Peru'da yapılan bir çalışmada kistik ekinokokkoz hastalığı olan çocukların ailelerinde de hastalık bilgi ve farkındalık düzeylerinin düşük olduğu gösterilmiştir (22). Fas kırsalında yapılan başka bir çalışmada ise toplumda hastalığın bilinme oranının %50 olmasına rağmen hastalık farkındalığının düşük, hastalıktan korunmak için yapılan uygulamaların (el yıkama, köpeklerin beslenmesi ve yaşam alanları) yetersiz olduğu ortaya konulmuştur (23).

Hastalığı bildiğini ifade eden öğrencilerin önemli bir kısmının hastalığın etkilediği temel organlar, bulaş yolu, ana konak, belirtiler ve tedavi edilebilirliği hakkında farkında olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan hastalığın bilinmeme durumu ikinci sınıf öğrencilerinde diğer sınıflara göre anlamlı ölçüde düşük bulundu. Bu durum müfredat programında bulaşıcı hastalıklar dersinin ikinci sınıfta yer almasından kaynaklanabilir. Öğrencilerin bilgi düzeyi üzerinde etkili olan diğer faktör de

annelerin çalışma durumudur. Çalışan annelerin eğitim düzeyinin de yüksek olması böyle bir sonucu desteklemektedir (Tablo 3-5). Elde edilen diğer bir dikkat çekici bulgu ise köpek sahipliğinin hastalığın bilinmesi üzerinde olmamasıdır (Tablo 3). Köpeği olanların hastalığı bildiği halde aldıkları koruyucu önlemlerin yetersiz olduğu dikkat çekmektedir (Tablo 4). Köpeğin veteriner kontrollerinin yerine getirilememesi, el hijyeni sağlamada ve tıbbi kontrol yaptırmada yetersizlikler öne çıkan olumsuz tutumlardandı. Bu sonuç bilgilerin uygulamaya dönüştürülmesinde sorun olduğunu düşündürmektedir. Buna karşın köpeği olan her beş öğrenciden dördünün kistik ekinokokkoz taraması yaptırmayı düşünmesi olumlu bir tutumdur.

## SONUÇ

Çalışmamızda öğrencilerin yaklaşık üçte birinin kistik ekinokokkoz hastalığını bildiği belirlenmiştir. Kistik ekinokokkoze yönelik öğrencilerin bilgi düzeylerinin düşük, hastalığın erken tanısına yönelik tutumlarının olumlu, hastalığın önlenmesi ve kontrol altına alınması açısından aldıkları önlemlerin yetersiz olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar ışığında müfredat programları dışında da hemşirelik öğrencilerine belirli aralıklarla hastalıkla ilgili sürekli ve güçlendirilmiş davranış değiştirici sağlık eğitimlerinin verilmesi önerilebilir.

## KAYNAKLAR

1. World Health Organization. <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/echinococcosis>. Erişim Tarihi: 25/05/2018.
2. Centers For Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/parasites/echinococcosis/>. Erişim Tarihi: 25/05/2018.
3. Torgerson PR, Budke CM. Echinococcosis-an international public health challenge. *Res Vet Sci*, 2003;74(3):191-202.
4. Grosso G, Gruttadauria S, Biondi A, Marventano S, Mistretta A. *World J Gastroenterol*, 2012;18(13):1425-37.

5. World Health Organization. Report of the WHO Informal Working Group on cystic and alveolar echinococcosis surveillance, prevention and control, with the participation of the Food and Agriculture Organization of the United Nations and the World Organisation for Animal Health. Department of Control of Neglected Tropical Diseases WHO, Geneva, Switzerland, 2011. <http://www.who.int/echinococcosis/resources/9789241502924/en/> Erişim Tarihi: 25/05/2018.
6. Craig PS, McManus DP, Lightowlers MW, Chabalgoity JA, Garcia HH, Gavidia CM, et al. Prevention and control of cystic echinococcosis. *Lancet Infect Dis*, 2007;7(6): 385-94.
7. World Health Organization. [http://www.who.int/echinococcosis/Global\\_distribution\\_of\\_cystic\\_echinococcosis\\_2011.pdf?ua=1](http://www.who.int/echinococcosis/Global_distribution_of_cystic_echinococcosis_2011.pdf?ua=1). Erişim Tarihi: 25/05/2018.
8. T.C. Sağlık Bakanlığı. <https://www.saglik.gov.tr/TR,4076/kist-kistik-ekinokokkoz-kistik-ekinokokkoz.html>. Erişim Tarihi: 25/05/2018.
9. T.C. Sağlık Bakanlığı, Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi-2004. <https://www.saglik.gov.tr/TR,11419/bulasici-hastaliklar-ihbari-ve-bildirimi-sistemi-standart-tani-surveyans-ve-laboratuvar-rehberi.html>. Erişim tarihi: 25.05.2018.
10. T.C. Sağlık Bakanlığı. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Kistik Ekinokokkoz. Bulaşıcı Hastalıkların Laboratuvar Tanısı için Saha Rehberi. <http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/ums/K/Kistik-ekinokokkoz.pdf>. Erişim Tarihi: 25.05.2018.
11. (<http://www.hidatidoloji.org/>). Erişim tarihi: 25.05.2018
12. Altıntaş K. İnsan sağlığı yönünden ekinokokkozun Türkiye’de ve dünyadaki epidemiyolojisi ve profilaksisi. *Türkiye Klinikleri Cerrahi Dergisi*, 1998;3:182-6.
13. World Bank. 2012. People, Pathogens and Our Planet : The Economics of One Health. Washington, DC. © World Bank. <https://openknowledge.worldbank.org/handle/10986/11892> License:CC BY 3.0 IGO. Erişim tarihi: 25.05.2018.
14. Kock R, Croft S, Dixon M, Fletcher C, Good L, Guzman J, et al. Prioritising the need for new diagnostics, medicine, vaccines and management practices of zoonoses which have significant impact in the developing world. DFID Zoonoses Report 6, 2012; 1-89. [http://r4d.dfid.gov.uk/pdf/outputs/livestock/DFID\\_ZOONOSES\\_REPORT\\_6\\_FINAL.pdf](http://r4d.dfid.gov.uk/pdf/outputs/livestock/DFID_ZOONOSES_REPORT_6_FINAL.pdf). Erişim tarihi: 25.05.2018.
15. Narrod C, Zinsstag J, Tiongco, MA. One health framework for estimating the economic costs of zoonotic diseases on society. *EcoHealth*, 2012; 9(2): 150-62.
16. Marsh.INC. The Economic and Social Impact of Emerging Infectious Disease: Mitigation through Detection, Research, and Response, 2008. [http://www.healthcare.philips.com/main/shared/assets/documents/bioshield/ecoandsocialimpactofemerginginfectiousdisease\\_111208.pdf](http://www.healthcare.philips.com/main/shared/assets/documents/bioshield/ecoandsocialimpactofemerginginfectiousdisease_111208.pdf). Erişim tarihi: 25.05.2018.
17. Nyakarahuka L, Oryema-Lalobo M, Kankya C, Siefert L, Ocaido M, Ejobi F. Knowledge, attitudes and practices towards cystic echinococcosis in Pastoral communities in Kasese District, Uganda. *Adv Trop Med Pub Health Int*, 2012; 2 (1): 32-39.
18. Taştan R, Altıntaş L, Cevizci S. Kocaeli il merkezinde bulunan hastanelerde çalışan hemşirelerin zoonotik hastalıklar hakkındaki bilgi düzeylerinin belirlenmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2016; 73(4): 365-378.
19. Snedeker KG, Anderosn ME, Sargeant JM, Weese JS. A survey of Canadian public health personnel regarding knowledge, practice and education of zoonotic diseases. *Zoonoses Public Health*, 2013; 60(7): 519-25.
20. John K, Kazwala R, Mfinanga GS. Knowledge of causes, clinical features and diagnosis of common zoonoses among medical practitioners in Tanzania. *BMC Infec Dis*, 2008; 8:162.
21. Fikire Z, Tolosa T, Nigusie Z, Macias C, Kebede N. Prevalence and characterization of hydatidosis in animals slaughtered at Addis Ababa abattoir, Ethiopia. *J Parasitol Vector Biol*, 2012;4 (1): 1-6.
22. Reyes MM, Taramona C, Saire-Mendoza M, Guevara C, Garcia HH. Disease awareness and knowledge in caregivers of children who had surgery for cystic hydatid disease in Lima, Peru. *Tropical Medicine and International Health*, 2010; 15 (12): 1533-1536.
23. El Berbri I, Ducrot MJ, Petavy AF, Fassifihri O, Shaw AP, Bouslikhane M, et al. Knowledge, attitudes and practices with regard to the presence, transmission, impact, and control of cystic echinococcosis in Sidi Kacem Province, Morocco. *Infectious Diseases of Poverty*, 2015; 4:48.

# Ünye ilçesinde Ağustos 2017'de meydana gelen norovirüs ilişkili su kaynaklı bir salgın üzerinden epidemiyolojik yaklaşım, kontrol önlemleri, zorluklar

## Epidemiological approach, control measures and challenges of a norovirus-associated waterborne outbreak in Unye district in August 2017

Zeynep Özge ÖZGÜLER<sup>1</sup>, Fehminaz TEMEL<sup>1</sup>, Pınar DUMAN<sup>1</sup>, Çağrı Emin ŞAHİN<sup>1</sup>

### ÖZET

**Amaç:** Ünye ilçesindeki hastanelere 20-23 Ağustos 2017 tarihleri arasında 1426 akut barsak enfeksiyonu (ABE) başvurusu olduğu saptanmıştır. İncelemenin amacı vaka sayısındaki artışın sebeplerini saptamak olası kaynakları kontrol altına almak ve salgının tekrarlanmaması için önlem almaktır. Çalışmanın bir diğer amacı da sahada karşılaşılan zorlukları ve salgına müdahalenin akışını ortaya koymaktır.

**Yöntem:** İnceleme için yüz yüze anket uygulanmak istenmiş ancak bölgenin fındık toplama zamanı olması ve kurban bayramı tatili döneminin başlaması nedeni ile vakalara ulaşılamayacağı anlaşılmıştır. Yüz yüze veri toplama çalışması yapılamamış olup vaka tespiti için hastane kayıtları kullanılarak tanımlayıcı bir çalışma yapılmıştır. Şüpheli vaka, ilçedeki hastanelere 20-23 Ağustos 2017 tarihleri arasında ABE ilişkili ICD-10; A09, R11 veya K52.8/9 tanı kodlarıyla başvuran kişidir. Otuz adet su örneğinin mikrobiyolojik, iki su örneğinin virolojik, yedi adet gaita örneğinin mikrobiyolojik, parazitolojik ve virolojik incelemeleri yapılmıştır.

**Bulgular:** Ünye'deki hastanelerden 1092 şüpheli vaka tespiti yapılmıştır (ilçe nüfusu: 125722). En sık tanı kodu R11: bulantı ve kusmadır (%41). Hastaların %53'ü kadındır.

### ABSTRACT

**Objective:** There were 1426 acute gastroenteritis hospital admissions in Unye district between 20-23 August 2017. Aim of this investigation conducted by field epidemiology unit was to identify possible reasons for the increase of cases, control probable sources and take preventive measures to prevent re-occurrence of the outbreak. Further aim of this study was revealing the difficulties encountered on the field and the flow of this intervention.

**Methods:** A face-to-face survey was intended but as it was hazelnut harvesting period of district and the beginning of a national holiday, it was understood that it wouldn't be possible to reach the cases. The survey couldn't be carried out, for case detection, a descriptive study using hospital records was conducted. The suspected case was a person admitted to district hospitals between 20-23 August 2017 with gastroenteritis related ICD-10 codes: A09, R11 or K52.8/9. Microbiological tests for 30; virological tests for two water samples; microbiological, parasitological and virological tests for seven stool samples were investigated.

**Results:** A total of 1092 suspected cases were identified from hospitals in Ünye (district population:

<sup>1</sup>Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Sağlık Tehditleri Erken Uyarı ve Cevap Dairesi, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Zeynep Özge ÖZGÜLER

Sağlık Mah. Prof. Dr. Nusret Fişek Cad. No: 41 Sıhhiye 06100 Ankara - Türkiye

Tel : +90 535 491 07 17

E-posta / E-mail : zeynepozgemd@gmail.com]

Geliş Tarihi / Received : 16.04.2018

Kabul Tarihi / Accepted : 23.02.2019

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2019.80106

Özgüler ZÖ, Temel F, Duman P, Şahin CE. Ünye İlçesinde Ağustos 2017'de meydana gelen norovirüs ilişkili su kaynaklı bir salgın üzerinden epidemiyolojik yaklaşım, kontrol önlemleri, zorluklar. Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(4): 441-452

Yaş ortalaması  $28,0 \pm 18,5$ , ortanca değeri 25'tir (En küçük: 0 - En büyük: 86). Epidemik eğri insandan insana bulaş ile uyumlu çoklu pik yapan dalgalı bir yapı göstermektedir. Belli bir mahallede kümelenme görülmemektedir, toplu yiyecek tüketimi maruziyeti olmamıştır. Çevre incelemesinde su depolarının mevzuata uygun olmadığı ve klor seviyelerinin yetersiz olduğu tespit edilmiştir. On adet su numunesinde *Escherichia coli*, iki numunede ise *E. coli* ve *Clostridium perfringens* birlikteliği tespit edilmiştir. Virolojik inceleme için gönderilen iki su örneğinde virüs tespit edilmemiştir. Altı adet gaita numunesinde Norovirüs tespit edilmiştir, bakteriyolojik ve parazitolojik inceleme sonuçlarında patojen tespiti veya üreme saptanmamıştır. Yapılan süper klorlama sonrasında yeni vaka çıkışında azalma gözlemlenmiştir.

**Sonuç:** Suda kontaminasyon olduğunu gösteren mikrobiyolojik inceleme sonuçları, vaka sayılarının aniden yükselmiş ve ilçe geneline dağılmış olmaları ve klinik numune sonuçları, salgının norovirüs ilişkili su kaynaklı bir salgın olduğuna işaret etmiştir. Gastroenterit salgınlarını oluşmadan önlemek için klorlamaların düzenli yapılması, rutin su denetlemelerinde patojenlerin veya düşük klor seviyelerinin tespit edilmesi halinde, vaka sayılarında artış olmadan, kontaminasyonun nedeninin araştırılması, depolar ve şebekelerin incelenmesi ve tespit edilen sorunlar için düzeltme çalışmaları yapılması önerilmiştir. Patojene özel, hızlı ve kanıta dayalı müdahale yapılabilmesi amacıyla norovirüse yönelik incelemeler için bölgesel analiz merkezlerinin olması veya sahada uygulanabilecek taşınabilir tespit yöntemleri ihtiyacı olduğu düşünülmektedir. Halk sağlığı eylemi açısından ilçede genel hijyen eğitimleri, hastane hazırlıklılığı, süper klorlama gibi konularda kararlar alınmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Gastroenterit, içme suyu, su kaynaklı salgın, salgın, norovirüs

125722). Most common diagnostic code was R11: nausea and vomiting (41%). Fifty-three percent of cases were female. Mean age was  $28.0 \pm 18.5$  and median value was 25 (Min.: 0 - Max.: 86). Epidemic curve revealed person-to-person transmission with propagated peaks. There was no clustering in a certain neighborhood nor common food exposure. Environmental investigation showed that structure of water tanks didn't comply with regulations and chlorine levels were inadequate. *Escherichia coli* was detected in ten water samples, coexistence of *E. coli* and *Clostridium perfringens* was detected in two samples. No virus was detected in two water samples. Norovirus was detected in six stool specimens, while bacteriological, parasitological examination revealed no detected pathogen. Decrease in cases was observed after hyperchlorination.

**Conclusion:** Results of microbiological examinations that showed contamination in water, sudden increase of cases and it's spread throughout district along with results of clinical samples, indicated that outbreak was a norovirus-associated water-borne outbreak. In order to avoid gastroenteritis outbreaks, regular chlorination, investigation of the causes for contamination, to examine water tanks/networks and improvement for detected problems in case of detected pathogens or low chlorine levels in routine water-inspections, prior to an increase in cases, were recommended. It was thought that portable detection methods or provincial-based analysis centers for norovirus-related analyses are necessities for conducting pathogen-specific, evidence-based interventions. For public health action, decisions were taken on issues such as general hygiene education, hospital preparedness and hyperchlorination.

**Key Words:** Gastroenteritis, drinking water, water-borne outbreaks, outbreak, norovirus

## GİRİŞ

Gastroenteritler günümüzde hala en çok rastlanan sağlık sorunlarından olup akut gastroenterit sporadik vakaları ve salgınlarında norovirüsler en sık karşımıza

çıkan etkenlerdendir. Etkenin beklenen inkübasyon süresi 12-48 saat arasındadır. İshal (kansız), bulantı, kusma ve karın ağrısı ile seyretmektedir. Tüm

yaş gruplarını etkilemektedir (1, 2). Caliciviridae familyasında bulunan norovirüslerin, tanımlanan beş genogrubu vardır. GI ve GII gruplarının insanda enfeksiyon oluşturduğu bilinmektedir (3, 4). Norovirüs gastroenteritleri, sık görülme, hızlı yayılma, düşük dozlarda enfekte edebilme ve dayanıklı virüsler olma özellikleri nedeni ile önemli bir halk sağlığı problemi olarak karşımıza çıkmaktadır (5, 6, 7). Norovirüs enfeksiyonlarına karşı özel bir antiviral tedavi bulunmamaktadır. Diğer akut barsak enfeksiyonlarına (ABE) benzer olarak sıvı elektrolit kaybını yerine koymak gibi semptomatik tedavi yaklaşımları izlenmektedir, hastalık genelde kendisini 1-3 gün içerisinde sınırlamaktadır (2). Norovirüs için aşılar geliştirilmektedir, ancak bunların etkinlikleri tartışmalıdır (8, 9).

Ülkemizde ABE tanıları İl Sağlık Müdürlükleri ve Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü birimlerince izlenmektedir. Beklenenin üzerinde artış veya kümelenme tespit edildiğinde erken müdahale çalışmaları başlatılmaktadır (10,11).

Ordu ili, Ünye ilçesinde 20.08.2017 tarihinden itibaren bulantı, kusma, ishal şikayetleri ile başvuran vaka sayılarında bir artış olduğu ve ilçedeki hastanelere 20-23 Ağustos 2017 tarihleri arasında 1426 ABE başvurusu olduğu saptanmıştır. Saha epidemiyolojisi birimince yapılan incelemenin amacı vaka sayısında artışa neden olabilecek etkenlerin saptanarak olası kaynakların kontrol altına alınıp salgının sınırlandırılması ve tekrarlanmaması için etkin önlemlerin alınmasıdır. Çalışmanın bir diğer amacı da norovirüs bağlantılı bu salgında etkenin ortaya konulmasında sahada karşılaşılan zorlukları ve salgına müdahalenin akışını ortaya koymaktır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bölgenin fındık toplama zamanı olması ve kurban bayramı tatili döneminin başlaması nedeni ile yapılmak istenen yüz yüze veri toplama çalışması için vakalara ulaşılamayacağı anlaşılmıştır. Hastalarla veri

toplama formu kullanarak görüşme yapılmamıştır. Vaka tespiti için hastane kayıtları kullanılarak tanımlayıcı bir çalışma yapılmıştır. Şüpheli vakalara ICD-10 tanı kodlarından ulaşılmıştır. Bu tanı kodları ile yapılan başvurulara ait listelerinden mükerrer kayıtlar çıkarılmıştır. Şüpheli vakalar Ünye ilçesindeki hastanelere 20-23 Ağustos 2017 tarihlerindeki gastroenterit ilişkili ICD-10; A09 (Diyare ve gastroenterit, enfeksiyöz kaynaklı olduğu tahmin edilen), R11 (Bulantı ve kusma) veya K52.8/9 (Gastroenterit ve kolit diğer, tanımlanmış enfektif olmayan/Gastroenterit ve kolit, enfektif olmayan, tanımlanmamış) tanı kodlarıyla başvuran kişilerdir.

Acil servis hekimleri ve hastanedeki vakalar ile görüşülerek semptom ve genel durum bilgileri alınmıştır. İlçede mahallelere göre atak hızları hesaplanarak kümelenme olup olmadığı incelenmiştir.

İlçede salgın tarihleri içinde veya öncesinde ortak bir maruziyet (konser, kutlama, düğün, mevlüt, toplantı vb.) olup olmadığı bilgileri, özellikli gruplar (mevsimlik tarım işçileri) ile ilgili bilgiler, ilçe şebekelerindeki arıza ve altyapı çalışmaları kayıtları ve ilçe özellikleri ile ilgili bilgiler Ordu İl Halk Sağlığı Müdürlüğü ve Ordu Su ve Kanalizasyon İdaresi (OSKİ) birimlerinden toplanmıştır.

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü (HSGM) Referans Laboratuvarına yedi gaita örneği gönderilmiştir. Numunelerde kültür, real-time multiplex PCR, ELISA ve direkt bakı yöntemleriyle virolojik, bakteriyolojik ve parazitolojik incelemeler yapılmıştır.

Çevre ve Çalışan Sağlığı Şube Müdürlüğünden Ünye İlçesi su şebeke hattı noktaları, su depolarının lokasyonları ve en son klorlanma durumları ile ilgili bilgiler alınmıştır. Depo krokileri çizilmiştir.

Ünye İlçesinde şebekelere su sağlayan dokuz adet depo, mahalle çeşmelerine su sağlayan bir depo mevcuttur. Çalışmamız esnasında 10 adet depodan, iki adet mahalle çeşmesinden ve 18 uç noktadan (musluktan) olmak üzere toplam 30 adet su örneği alınarak mikrobiyolojik incelemeler için Ordu Halk Sağlığı Laboratuvarına gönderilmiştir. Bu

laboratuvarda su örnekleri kimyasal ve mikrobiyolojik olarak incelenmiştir ancak suda viral etkenler Halk Sağlığı Laboratuvarında bakılamamaktadır. Mahalle çeşmesinden ve deposundan alınan iki adet numune viral incelemeler yapılması için Tüketici Güvenliği ve Halk Sağlığı Laboratuvarları Dairesi Başkanlığına gönderilmiştir. Ayrıca yedi adet köy deposu ziyaret edilerek fiziksel şartların uygunluğu, çevre düzenlemeleri ve depoların durumu incelenmiş, bakiye klor seviyeleri ölçülmüştür. İl Hıfzıssıhha Kurulu toplanarak, salgın ile ilgili halk bilgilendirmeleri, hastane hazırlığı, süper klorklama gibi trans-disipliner konularda çok paydaşlı olarak uygulanacak kararlar alınmıştır.

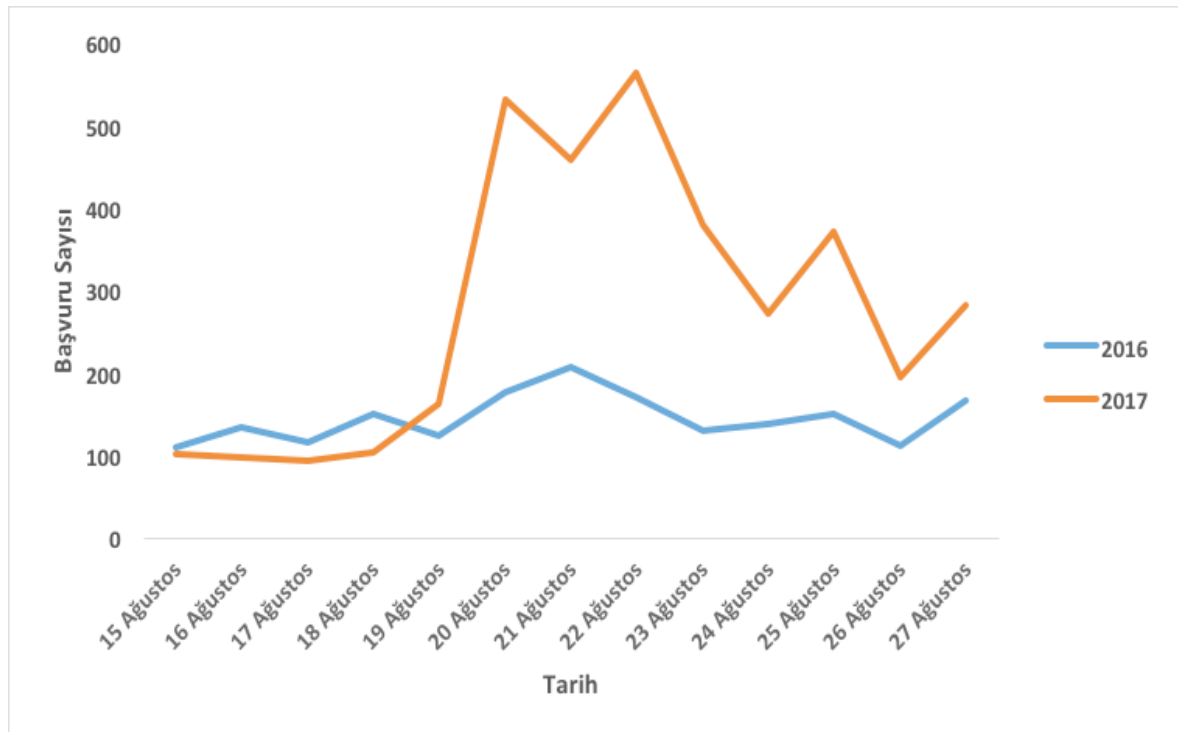
Verilerin analizinde sayısal ve yüzde dağılımları, sürekli değişkenler için ortalama±standart sapma ve ortanca (minimum-maksimum) değerleri, atak hızları verilmiştir. Cinsiyete ve yaş grubuna özel atak hızları karşılaştırılmıştır. Bu araştırma bir tanımlayıcı

çalışma olduğu için hastalık ve risk faktörleri ilişkisi incelenmemiştir. Analizler için Microsoft Office Excel ve Epi Info 3.5.4 kullanılmıştır.

Salgın incelemesi ve müdahalesi yapıldığından etik kurul onayı alınmamıştır.

## BULGULAR

Ünye, Ordu'ya bağlı bir ilçedir ve kuzey sınırını Karadeniz çizmektedir. 2017 yılı sonu Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre nüfusu 125.722'dir ve 85 mahallesi vardır. İlçede iki hastane bulunmaktadır. Ordu Halk Sağlığı Müdürlüğü tarafından Ünye Devlet Hastanesi ve ilçedeki özel hastaneye 20-23 Ağustos 2017 tarihlerinde ABE ilişkili tanı kodlarıyla başvurunun arttığı bilgisi verilmesi üzerine ilçede artıştan önceki haftalar ve bir önceki yılın aynı dönemindeki başvuru sayıları karşılaştırılarak salgın varlığı doğrulanmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. 15-27 ağustos 2016 ve 2017 tarihlerinde, ünye ilçesindeki hastanelere olan ABE ilişkili başvuruların sayılarının karşılaştırılması

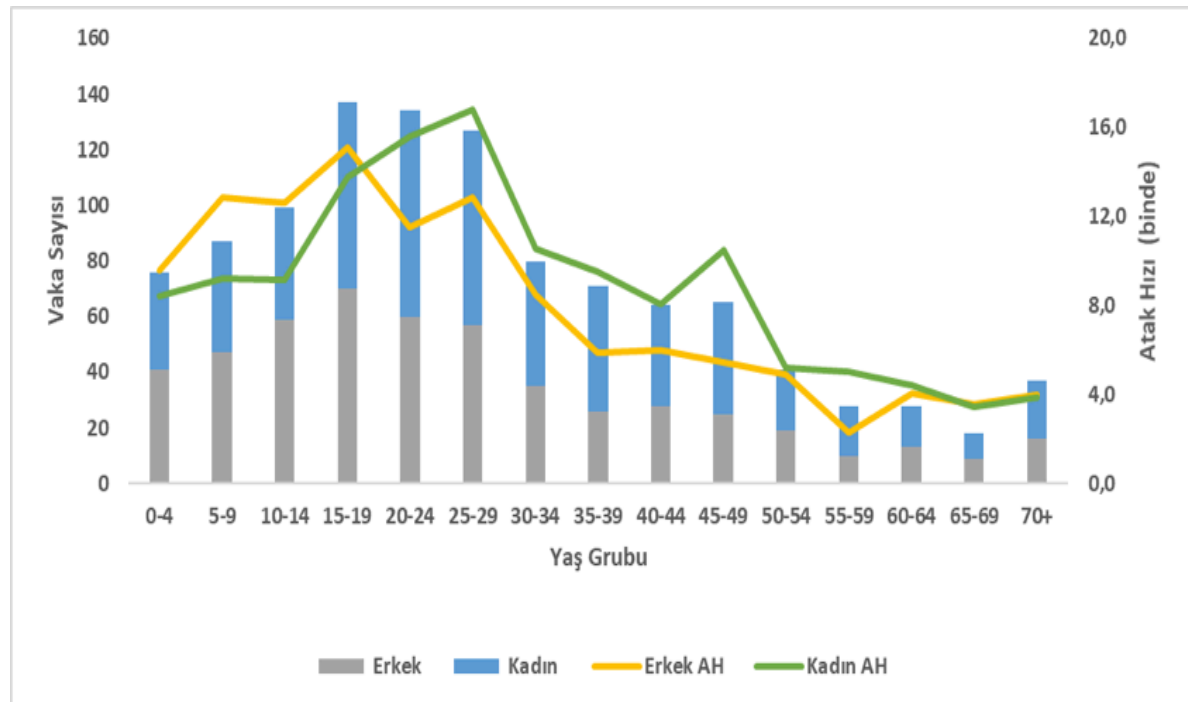
Ünye'deki hastanelerden nüfus kayıt sistem veya beyan adreslerinin Ünye ilçesinde olduğu görülen 1092 şüpheli vaka tespiti yapılmıştır. En sık tanı kodu R11: bulantı ve kusmadır (%41). Vakaların %53'ü kadındır. Yaş ortalaması  $28,0 \pm 18,5$ , ortanca değeri 25'tir (en küçük: 0 - en büyük: 86). Salgından tüm yaş grupları etkilenmiş olmakla birlikte, atak hızının en yüksek bulunduğu yaş grubu 25-29'dur (Şekil 2). Bu salgında kaba atak hızı binde 8,7'dir. Cinsiyete göre atak hızı erkeklerde binde 8,2 ve kadınlarda binde 9,1'dir.

Devlet hastanesi acil servis hekimi ve gözlem altında tutulan hastalarla görüşülmüştür. Alınan bilgilere göre öne çıkan semptomlar bulantı, kusma, karın ağrısı ve ishaldir. Acil servis hekimi hastaların genel durumlarının iyi olduğunu ve birkaç gün içinde semptomlarının düzeldiğini bildirmiştir. Yatışı yapılan hasta olmamıştır.

İlçede salgına neden olabilecek ortak gıda tüketimi gerçekleştirilen herhangi bir organizasyonun düzenlenmediği yetkililerden ve görüşülen şüpheli vakalardan öğrenilmiştir.

Ağustos ayı başı itibarıyla bölgede fındık toplama sezonunun başladığı, diğer şehirlerden fındık toplamak için ilçeye gelen kişiler nedeniyle nüfusun geçici olarak arttığı, ayrıca ilçe halkının da fındık yetiştirme bölgelerine gidip gelmesi nedeni ile ilçe içindeki nüfusun ay boyunca sürekli değiştiği bilgisi alınmıştır.

Fındık toplama dönemi nedeni ile o sırada ilçede çok sayıda bulunan mevsimlik tarım işçilerinden (MTİ) kaynaklanan bir vaka sayısı artışı olup olamayacağı araştırılmıştır. MTİ hakkında bilgi almak amacıyla Toplum Sağlığı Hizmetleri Şube Müdürlüğü yetkilileri ile görüşülmüş, 2017 Ağustos ayı içinde Ünye ilçesindeki MTİ sayısının 1150 olduğu bilgisi alınmıştır. Ziyaret edilen MTİ platformunda (konaklamaları için kendilerine ayrılan kamp alanı) ABE vaka sayısında dikkat çeken bir artış olmadığı tespit edilmiştir. İçme ve kullanma suyu tükettikleri, kamp alanındaki ortak çeşmelerinde bakiye klor seviyeleri ölçümü yapılmış, serbest bakiye klor seviyesinin yeterli düzeyde olduğu saptanmıştır.



Şekil 2. Yaş guruplarına ve cinsiyetlere göre atak hızları (AH) ve vaka sayıları (Ordu, Ünye, 20.08.2017-23.08.2017)

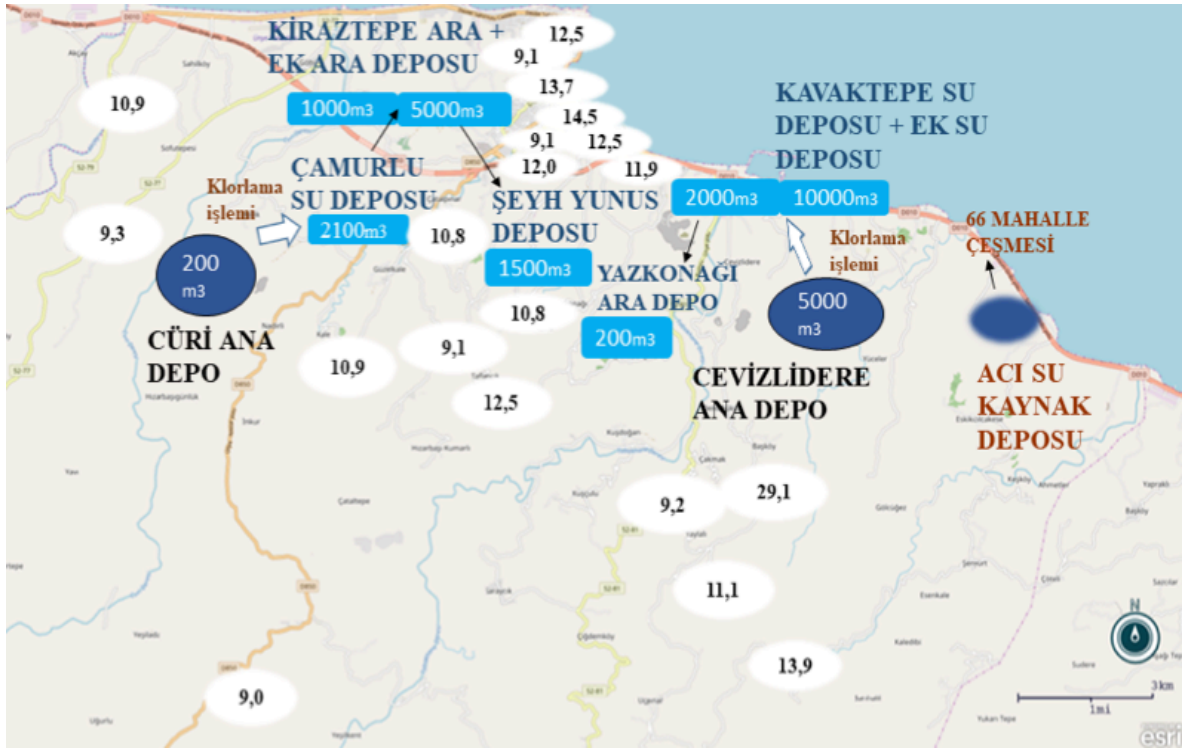
Belediye yetkililerinden ilçede alt yapı çalışmalarının sürdüğü bilgisi alınmıştır. İlçede 01-24 Ağustos 2017 tarihleri arasında toplam 240 adet kanal arıza, 394 adet içme suyu arıza tespit edildiği ve tamamının onarıldığı bildirilmiştir. Arıza ve onarım arasında geçen süreye dair yetkililerin elinde bilgi olmadığı belirtilmiştir.

Çevre Sağlığı Şubesi ve OSKİ çalışanlarından, Ordu'da yaz sezonunun kurak geçtiği ve zaman zaman suların temel dağıtım noktalarında birikmeden (klor rezidüel etkisini göstermeden) şebekelere dağıldığı ve kişisel kuyularda dahil olmak üzere ilde fazlaca su kaynağı olduğu bilgisi alınmıştır.

Ünye ilçesinin merkez mahallelerine kaynağı farklı iki ana depodan içme ve kullanma suyu gelmektedir. Yeşil Kent Cevizdere su kuyuları toplama merkezine gelen su, burada süzdürme çöktürme ve klorlama işlemlerinden geçirilerek uç noktalara dağılmak üzere Kavak Tepe ve Yaz Konağı depolarına verilmektedir.

Diğer ana depo olan Curi deposuna yedi adet keson kuyudan su sağlanmaktadır ve su burada klorlanıp önce üç küçük depoya, sonra şebeke sistemine aktarılmaktadır. İlçenin yaklaşık üçte birinin içme ve kullanma suyu buradan temin edilmektedir (Şekil 3). İlçe merkezinde ayrıca 66 adet "acı su" olarak ifade edilen mahalle çeşmesi bulunduğu öğrenilmiştir. Bu çeşmelere giden suyun tek kaynaktan çıktığı, etrafının bir depo şeklinde kapatıldığı ancak herhangi bir arıtma veya klorlama işlemine tabi tutulmadığı görülmüştür.

Şebeke suyu depolarında 23.08.2017 tarihinde yapılan değerlendirmelerde; OSKİ kontrolündeki depoların bazılarının ilgili mevzuata uygun olduğu, bazılarında fiziksel koşulların uygun olmadığı (depo içerisine inen paslı merdivenler olduğu, bahçesinde hayvan izleri olduğu, etrafında koruma bandı olmadığı, depo pencerelerinin açık kaldığı) saptanmıştır. Depo ve çeşmelerde bakiye klor seviyelerinin bazı



Şekil 3. Ordu İli Ünye ilçesindeki atak hızı en yüksek 20 mahalledeki atak hızları (%) ve ilçedeki su depolarının yerleşimleri (20.08.2017-23.08.2017)



noktalarda sıfır veya yetersiz olduğu tespit edilmiştir, ziyaret edilen mahalle çeşmesi (acı su) deposunun etrafında çevre koruma bandının olmadığı, içindeki klor cihazının aktif olmadığı görülmüştür. Yedi adet uç noktada (çeşme) ve bir depoda bakiye klor ölçüm sonucu 0 ppm ve bir uç noktada 0,1 ppm olup mevzuat limiti olan uç noktada 0,2-0,5 ppm aralığının altındadır.

Mahalle çeşmelerinden alınan iki adet numunede, altı adet şebeke çeşmesi numunesinde, iki adet şebeke deposu numunesinde *Escherichia coli*, iki depoda *E. coli* ve *Clostridium perfringens* üremesi tespit edilmiştir. Tüketici Güvenliği ve Halk Sağlığı Laboratuvarları Dairesi Başkanlığına virolojik inceleme için gönderilen iki adet numunede virüs tespit edilmediği bildirilmiştir.

İlçedeki kaynakların ve su depolarının konumları ve atak hızı en yüksek 20 mahallenin atak hızı harita üzerinde işaretlenmiştir (Şekil 3). Atak hızının (% 29) en yüksek bulunduğu mahalle Tepeköy mahallesidir. Ancak bu mahallenin nüfusu 103 kişi olup sadece 3 vaka bulunmaktadır. Mahallere göre atak hızları birbirine yakın düzeyde olup belli bir mahallede kümelenme görülmemektedir.

Her köyün bir veya birden fazla kendi deposunun bulunduğu ancak bunların çoğunun köy halkı tarafından yapıldığı, mevzuat gereği sadece 50 haneden fazla kullanımı olan depoların klorlanması takip edildiği, bu nedenle 50 haneden az kullanıcısı olan depolarda klor cihazı bulunmadığı ve tablet klor kullanılmadığı görülmüştür. Bu depolardan altı tanesi yerinde görülüp bakiye klor seviyeleri ölçülmüştür. Bu depolardan bir tanesinde bakiye klor seviyesi (Yüceler köyü ana depo) 0,3 ppm, kalan beş tanesinde 0 ppm olarak ölçülmüştür. Bireysel olarak köy halkı tarafından açılıp kullanılan bu depolarının klorlanmadığı, fiziksel şartlarının uygun olmadığı, sayıca çok olup birkaç haneye bir adet depo düştüğü için denetim sağlanmasında zorluklar olduğu görülmüştür. Ünye ilçesindeki 60 köyden 54'ünün otomatik klor cihazı bulunan büyük depoları da mevcut olup, bunlar OSKİ

yetkililerince ve Toplum Sağlığı Merkezi personelince takip edilmektedir.

Vakalardan alınarak HSGM Referans Laboratuvarına gönderilmiş olan yedi adet gaita numunesinin bakteriyolojik ve parazitolojik inceleme sonuçlarında patojen tespiti veya üreme saptanmamıştır. Virolojik incelemeler sonucu yedi adet numunenin altısında norovirüs; dört kişide Norovirüs GI, bir kişide Norovirüs GII, bir kişide Norovirüs GI ve Norovirüs GII tespit edilmiştir.

### TARTIŞMA

Ordu ili Ünye ilçesinde 20.08.2017 tarihi itibarı ile bulantı, kusma, ishal, karın ağrısı, ateş şikâyetleriyle sağlık kurumlarına başvuruların artması sebebiyle yapılan incelemelerde ABE vaka sayılarının aniden yükselmeye başlaması, vakaların ilçe genelinde yaygın olarak görülmesi, her yaş grubunu etkilemesi, hastalardan alınan klinik örneklerde Norovirüs GI ve GII tespit edilmesi, depo ve çeşmelerden alınan su numunelerinin mikrobiyolojik incelemelerinde *E. coli* ve *C. perfringens* tespit edilmesine bağlı olarak suların kontamine olduğunun anlaşılması Ünye ilçesinde görülen bu salgının su kaynaklı olduğunu düşündürmüştür.

Bu salgından önce ülkemizde bildiri yapılan norovirüs bağlantılı su kaynaklı en son salgın 2016 yılı Ağustos ayında Kahramanmaraş İli Elbistan İlçesinde olmuştur. Hastaların %54'ü kadın, %46'sı erkek olup 24,2±20,1 yaş ortalaması ile tüm yaş gruplarını etkilemiştir. Ünye ilçesindeki salgında da Elbistan İlçesindeki salgınla benzer olarak tüm yaş gruplarında etkilenme görülmüştür. İki incelemede de kadın vakaların yüzdesi erkek vakalar ile benzerdir (10).

Bu salgında atak hızı düşük bulunmuştur. Gastroenteritlerde semptomların genelde ağır seyretmemesi ve vakadan vakaya değişiklik göstermesi gibi nedenler vakaların hepsinin hastaneye başvurmasına yol açmaktadır. Bu sebeple vakaların hastaneden tespit edilmesinin, salgından etkilenen

tüm kişilerin tespit edilememesine yol açmış olabileceği ve hesaplanan kaba atak hızının, gerçek atak hızının altında olabileceği düşünülerek bu salgına müdahale edilmiştir.

Su kaynaklı salgınlar su kalitesinde uygunsuzluk, tüketicilerden gelen şikayetler, su sisteminde arıza gibi faktörlerin düzenli olarak izlenmesiyle salgından önce ya da salgının erken döneminde fark edilebilir. Ancak bu tür su kaynaklı salgınlarının tespiti genelde hasta sayısında artış meydana geldikten sonra yapılabilmektedir. Ani başlangıçlı, çok sayıda kişiyi etkileyen salgınlar bu durumu açıklayan farklı bir kaynak olmadığında çoğunlukla kontamine su ile ilişkilidir. Ancak suda bakterilerin tespiti genellikle yapılabilmemesine rağmen norovirüs gibi viral etkenler her zaman tespit edilememektedir. Viral patojenin suda gösterilmesi zor bir süreçtir, gösterilemediği durumlarda genel koliform ve diğer patojen sayıları suda fekal kontaminasyon olduğunu ortaya koymak için iyi indikatörlerdir (12). Bu salgında klinik numune sonuçları norovirüsü işaret etmekle birlikte su numune sonuçlarında sadece E. coli ve C. perfringens tespit edilmiştir. Böyle durumlarda salgının kaynağını belirlemek için epidemiyolojik çalışma sonuçlarına ve şüpheli odakların durumunu gösteren diğer indikatörlere bakılmaktadır (11, 13). Su kalitesinin kötü olduğunu gösteren indikatörlerin varlığı ve bununla birlikte tanımlayıcı epidemiyolojik çalışmanın salgının su kaynaklı olduğuna işaret etmesi, salgın muhtemelen su kaynaklıdır diyebilmemizi sağlamıştır.

Bu çalışmada alınan gaita numunelerinde norovirüs tespit edilmesine rağmen su numunesinde aynı etken saptanamamıştır. Suda norovirüs tespiti yüksek hacimdeki suyun (100 L) membran filtrelerden geçirilerek konsantre edilmesi ile saptanmaktadır. İki kaynaktan ve farklı uç noktalardan su örnekleri alınmak istenmiştir. Ancak yaklaşık 12000 L su alınmasının gerekmesi, bu suyun taşınması ve referans laboratuvara ulaştırmanın zorluğu nedenleri ile yeterli su örneği alınarak çalışılamamıştır.

Ülkemizde son zamanlarda norovirüs bağlantılı

salgınlar bildirilmeye başlamıştır (10, 11). Patojenin erken tespiti salgını sınırlandırabilmek, etkene özgül koruma ve kontrol önlemlerini alabilmek ve uygun tedavileri uygulamak için çok önemlidir (14). Ancak virüs kaynaklı salgınlarda, su incelemeleri için yüksek litrelerde numune ihtiyacı, çevresel numunelerde etkeni tespit etmenin güçlüğü gibi çokça zorluklar ile karşılaşılmaktadır.

Norovirüs vaka bildirimleri dünyada daha çok kış aylarında artsa da yaz aylarında da ani artışlar olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (15, 16). Ülkemizde yapılan bir çalışmada Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Viroloji Referans ve Araştırma Laboratuvarında bir yıl boyunca laboratuvara gönderilen örnekler incelenmiştir. Bu çalışmada norovirüsün mevsimsel ve bölgesel özellikleri incelenmiştir. Çalışmada norovirüsün yılın her döneminde görüldüğü, ancak coğrafik bölgelere göre mevsimsel farklılık olduğu saptanmıştır. Ordu İlinde norovirüs GI veya GII (tek tek veya birlikte) tespit edilen numunelerin, bu salgında olduğu gibi, daha çok yılın Temmuz ve Ağustos aylarında gönderildiği bildirilmiştir (17).

Norovirüsün geniş antijenik ve genetik çeşitliliği nedeniyle tanı koydurucu testlerin geniş aralıktaki tipleri tanınması gerekmektedir. Bununla birlikte virüsle karşılaşanlarda immünitinin çok kısa süreli olması hastalığın yaygın ve sık görülmesine yol açmaktadır. Mevcut olan analiz metodları sahada salgına müdahalede kullanım için yeterince basit ve uygulanabilir değildir. Sahada kullanılabilecek taşınabilir testlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar mevcuttur (18, 19, 6).

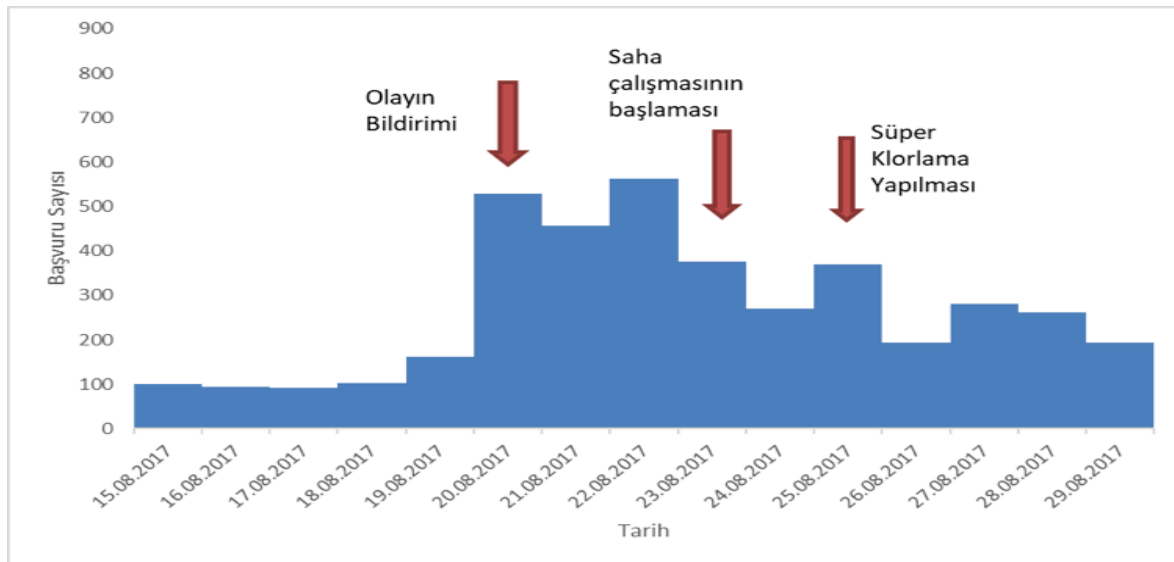
Norovirüs salgınlarında iki yolla bulaş olmaktadır. Birinci bulaş yolu sudan doğrudan bulaş olup, ikinci yol kişiden kişiye bulaştır (7). Ünye'de gerçekleşen bu salgını durdurmak için eş zamanlı olarak olası kaynağa ve bulaş yollarına yönelik müdahale yapılmıştır. Depo ve çeşmelerden alınan su numunelerinin mikrobiyolojik inceleme sonuçlarında ilgili mevzuata göre uygunsuzluklar vardır. Ayrıca bakiye klor düzeyleri

de yetersizdir. Daha önce ilçede klorlama işlemleri yapılmak istendiğinde suyun tadının değiştiğine dair halktan tepki alındığı, bu nedenle klorlamanın düzenli olarak yapılmadığı öğrenilmiştir. Depolarda klorlama yapılması ve mahalle çeşmelerine bağlı olan kaynak suyunun deposundaki kapatılmış olduğu ifade edilen klor cihazının aktif olarak kullanılması önerilmiştir.

Suyun dezenfeksiyonu için uygulanan rutin klorlamalar norovirüse karşı yeterli olmayabilmektedir. Ancak doğru uygulanan yüksek doz klorlamaların norovirüs GI ve GII dezenfeksiyonunda etkili olduğu gösterilmiştir (20-23). İl Hıfzısıhha Kurulu toplanmıştır ve tüm ilgili kurum ve kuruluşlar için kararlar alınmıştır. Alınan kararlar arasında; kısa vadede uygulanacak olan klorlama, halka yönelik bilgilendirme, eğitimler gibi kontrol önlemleri ve uzun vadede uygulanacak depoların kontrolleri ve fiziksel düzenlenmeleri, su hattını etkileyen arıza veya alt yapı çalışmaları olduğunda ilgili kurumların bilgilendirilmesi konuları yer almıştır. Bu kararlar alındıktan sonra ilçede tüm depolarda ve mahalle çeşmesi deposunda süper klorlama yapılması sağlanarak beklenilmiş ve uç noktalardan boşaltımı yapılmıştır. Bu süre zarfında halkın musluk suyu kullanmaması sağlanmıştır.

Norovirüs salgınlarında ikincil bulaş şekli, kişiden kişiye bulaş ve aerosol maruziyeti ile gerçekleşmektedir. Bu nedenle yüksek sekonder atak hızı görülmektedir ve salgın eğrisinde çoklu yükselmeler oluşturmaktadır. Norovirüsün düşük dozlarda enfektif etkisi olması, çevre şartlarına direnci sebebi ile çevrede canlı kalabilmesi, virüsün fekal-oral yol veya aerosol maruziyeti ile kontamine yüzeyler, cisimler ve doğrudan kişiden kişiye bulaş ile kolayca yayılmasında büyük rol oynamaktadır (3).

Tüm bu özellikleri nedeniyle virüsün sekonder yayılmasını önlemek amacıyla kişilere el yıkama, çeşme suyunu kaynatarak tüketme, sebze ve meyveleri yıkarken çeşme suyu kullanılacaksa kaynatıldıktan sonra kullanılması, virüsün bulaş yolları hakkında kişilerin bilgilendirilmeleri ve genel hijyen eğitimleri verilmesi sağlanmıştır (7, 24, 25). Bilgilendirme ve eğitim çalışmaları, 25.08.2017 tarihinde mahalle çeşmelerine su veren depoya ve diğer depolara süper klorlama yapılmasının ardından 26 Ağustos itibarıyla tespit edilen ABE başvuru sayılarında düşme görülmüştür. Epidemik eğri insandan insana bulaş ile uyumlu çoklu pik yapan dalgalı bir yapı göstermiştir (Şekil 4).



Şekil 3. Ordu İli Ünye ilçesindeki hastanelerde 15.08.2017-29.08.2017 tarihleri arasındaki akut barsak enfeksiyonu başvurularının günlere göre dağılımı

Salgın başında hastaneden alınan verilerle salgın boyutu ve özellikleri hakkında bilgi sahibi olmak için analiz yapılmıştır, ancak hastane otomasyon sisteminden alınan verilerdeki adres bilgilerinin metin halinde olması nedeniyle vakaların yer dağılımını zamanında yapmak sorun oluşturmakta, eksik ve karmaşık verileri düzenlemek zaman almaktadır. Bu durum salgına müdahaleyi geciktirmekte ve zorlaştırmaktadır.

## SONUÇ

Aniden yükselmiş olan vakaların ilçe geneline dağılmış olması, belirli bir kümelenmenin saptanmamış olması, depo ve uç noktalardaki sularda fekal kontaminasyon olduğunu gösteren mikrobiyolojik inceleme sonuçları, salgının su kaynaklı olduğunu; kayıtlarda bulantı ve kusmanın ön planda olması, klinik seyir ve klinik numune sonuçları salgının norovirüs ilişkili bir salgın olduğunu düşündürmüştür. Bunlara yönelik koruma ve kontrol önlemleri alınmıştır.

Çalışma, salgındaki müdahale aşamalarının ortaya konulması, yapılan incelemelerin kayıt altına alınması, ilgililere yol göstermesi, müdahalede ortaya çıkan zorlukların tekrar yaşanmaması ve önlem alınması amacıyla yazılmıştır.

Farklı iller göz önüne alınarak patojene özel, hızlı ve kanıta dayalı bir şekilde müdahale edilebilmesi amacıyla hem klinik, hem su numunelerindeki virolojik incelemeler için yakın ve kolay ulaşılabilir analiz merkezlerinin olması veya sahada uygulanabilecek taşınabilir tespit yöntemleri geliştirilmesi ihtiyacı olduğu düşünülmektedir.

Bununla beraber uygulanan rutin su denetlemelerinde patojenlerin tespit edilmesi halinde, vaka sayılarında artış olmadan, mevcut kontaminasyonun nedeninin araştırılması, gerekli görüldüğünde depolar ve şebekeler ziyaret edilerek incelenmesi ve tespit edilen fiziksel uygunsuzluklar için düzeltme çalışmaları yapılması ABE ilişkili salgınları sınırlamada ya da salgın henüz oluşmadan önlemede önemlidir.

## KAYNAKLAR

1. Ahmed SM, Hall AJ, Robinson AE, Verhoef L, Premkumar P, Parashar UD, et al. Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*. 2014;14(8):725-730.
2. Ahmed SM, Hall AJ, Robinson AE, Verhoef L, Premkumar P, Parashar UD, et al. Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*. 2014;14(8):725-730.
3. Bulaşıcı Hastalıkların Laboratuvar Tanısı için Saha Rehberi, Norovirüs Enfeksiyonu. <http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/ums/M-N/Norovirus-enfeksiyonu.pdf> (12 Nisan 2018).
4. Glass RI, Parashar UD, Estes MK. Norovirus gastroenteritis. *The New England journal of medicine*. 2009;361(18):10.1056/NEJMra0804575. doi:10.1056/NEJMra0804575.
5. Glass RI, Noel J, Ando T, Fankhauser R, Belliot G, Mounts A, et al. *J Infect Dis*. 2000 May;181 Suppl 2:S254-61. The epidemiology of enteric caliciviruses from humans: a reassessment using new diagnostics. doi:10.1086/315588.
6. Vinjé J. Advances in Laboratory Methods for Detection and Typing of Norovirus. *J Clin Microbiol*. 2015 Feb;53(2):373-81. doi:10.1128/JCM.01535-14.
7. Patel MM, Hall AJ, Vinjé J, Parashar UD. Noroviruses: a comprehensive review. *J Clin Virol*. 2009 Jan;44(1):1-8. doi:10.1016/j.jcv.2008.10.009.
8. Simmons K, Gambhir M, Leon J, Lopman B. Duration of immunity to norovirus gastroenteritis. *Emerg Infect Dis*. 2013 Aug;19(8):1260-7. doi:10.3201/eid1908.130472.
9. Lopman BA, Steele D, Kirkwood CD, Parashar UD. The Vast and Varied Global Burden of Norovirus: Prospects for Prevention and Control. *PLoS Medicine*. 2016;13(4):e1001999. doi:10.1371/journal.pmed.1001999.
10. Şahan S, Yılmaz Ş, Topal S, Özarslan F, Çeliker Yenice A, Gökteş D ve ark. Kahramanmaraş ili Elbistan ilçesinde görülen akut barsak enfeksiyonu vaka artışı incelemesi, Ağustos 2016. *Türk Hij Den Biyol Derg*. 2017; 74(Su Kongresi): 13-20.
11. Barlas G, Tozan E, Altuğ Y, Aktaş D, Temel F, Korukluoğlu G ve ark. Kütahya ili Tavşanlı ilçesinde ishal salgını incelemesi, Temmuz 2014, Bir Olgu-Kontrol Çalışması. *Türk J Public Health* 2016;14(2) 81. doi: 10.20518/thsd.31346.
12. Gallay A, De Valk H, Cournot M, Ladeuil B, Hemery C, Castor C, et al. A large multi-pathogen waterborne community outbreak linked to faecal contamination of a groundwater system, France, 2000. *Clin Microbiol Infect*. 2006 Jun;12(6):561-70. doi:10.1111/j.1469-0691.2006.01441.x.
13. Tillet HE, de Louvois J, Wall PG. Surveillance of outbreaks of waterborne infectious disease: categorizing levels of evidence. *Epidemiol Infect*. 1998;120(1):37-42.
14. Gönen İ. Management of a large outbreak caused by norovirus and campylobacter jejuni occurred in a rural area in Turkey. *Nobel Med* 2013; 9(2): 47-51, English.
15. Lopman BA, Reacher M, Gallimore C, Adak GK, Gray JJ, Brown DW. A summertime peak of "winter vomiting disease": Surveillance of noroviruses in England and Wales, 1995 to 2002. *BMC Public Health*. 2003;3:13. doi:10.1186/1471-2458-3-13.
16. Mounts AW, Ando T, Koopmans M, Bresee JS, Noel J, Glass RI. cold weather seasonality of gastroenteritis associated with norwalk-like viruses. *The Journal of Infectious Diseases* 01 May 2000, 181 Suppl 2:S284-7. doi:10.1086/315586.
17. Albayrak N, Yağcı Çağlayık D, Altaş A, Korukluoğlu G, Ertek M. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Viroloji Referans ve Araştırma Laboratuvarı, 2009 yılı akut viral gastroenterit verilerinin değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg*. 2011; 68(1): 9-15. doi:10.5505/TurkHijyen.2011.64326.

18. Parrino T, Schreiber D, Trier J, Kapikian A, and Blacklow N. clinical immunity in acute gastroenteritis caused by norwalk agent. *N Engl J Med* 1977; 297:86-89 doi:10.1056/NEJM197707142970204.
19. Morillo SG, Luchs A, Cilli A, Ribeiro CD, Calux SJ, Carmona Rde C, et al. Norovirus 3rd Generation kit: an improvement for rapid diagnosis of sporadic gastroenteritis cases and valuable for outbreak detection. *J Virol Methods*. 2011 Apr;173(1):13-6. doi: 10.1016/j.jviromet.2010.12.017.
20. Keswick BH, Satterwhite TK, Johnson PC, DuPont HL, Secor SL, Bitsura JA, et al. Inactivation of norwalk virus in drinking water by chlorine. *Applied and Environmental Microbiology*. 1985;50(2):261-264.
21. Kitajima M, Tohya Y, Matsubara K, Haramoto E, Utagawa E, Katayama H. Chlorine inactivation of human norovirus, murine norovirus and poliovirus in drinking water. *Lett Appl Microbiol*. 2010 Jul;51(1):119-21. doi: 10.1111/j.1472-765X.2010.02869.x.
22. CDC “Norwalk-Like Viruses”:Public Health Consequences and Outbreak Management. <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5009a1.htm> (12 Nisan 2018).
23. El-Senousy W, El-Gamal M, Mousa A, El-Hawary S, Kamel M, Fathi M, et al. Effect of chlorine on noroviruses, rotaviruses and hepatitis e virus in drinking water. *World Applied Sciences Journal*. 32. 2206-2212. doi: 10.5829/idosi.wasj.2014.32.11.91114.
24. A. Gallay, H. De Valk, M. Cournot, B. Ladeuil, C. Hemery, C. Castor et al. A large multi-pathogen waterborne community outbreak linked to faecal contamination of a groundwater system, France, 2000 *Clinical Microbiology and Infection* June 2006; 12(6) : 561-570 doi:10.1111/j.1469-0691.2006.01441.x.
25. Barclay L, Park GW, Vega E, Hall A, Parashar U, Vinjé J, Lopman B. Infection control for norovirus. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Aug;20(8):731-40. doi:10.1111/1469-0691.12674.

## Cystic echinococcosis cases in a tertiary hospital between 2006 and 2016

### Üçüncü basamak bir hastanede 2006-2016 yılları arasında kistik ekinokokkozis vakaları

Arif Dogan HABILOGLU<sup>1</sup>, Duygu MERT<sup>2</sup>, Niyazi KARAMAN<sup>3</sup>, Guray TOGRAL<sup>4</sup>, Mustafa ERTEK<sup>2</sup>

#### ABSTRACT

**Objective:** Echinococcosis is a zoonotic disease caused by *Echinococcus* species. *Echinococcus granulosus* is the most frequent factor of disease. It is the cause of significant morbidity and mortality. The aim of this study was to compare the clinic and laboratory findings in hepatic and extrahepatic involvement of hydatid cysts cases and to determine whether there was a significant difference in terms of serological, biochemical and recurrence in both group.

**Methods:** The study was planned retrospectively. Total of 82 patients were evaluated. Patients were divided into two groups as hepatic and extrahepatic involvement. Hepatic involvement was detected in 45 patients and extrahepatic involvement was detected in 37 patients.

**Results:** In group of hepatic involvement, 20 patients were male and 25 patients were female. The mean age of the patients was 47 years. In the laboratory examination; in 25% of patients leukocytosis and in 4% of patients eosinophilia were detected. In 8% of patients increase of globulin fraction, in 44% of patients increase of C-reactive protein (CRP), in 35% of patients increase

#### ÖZET

**Amaç:** Ekinokokkoz, *Echinococcus* türlerinin neden olduğu zoonotik bir hastalıktır. *Echinococcus granulosus* hastalığın en sık etkenidir. Önemli oranda mortalite ve morbiditeye neden olmaktadır. Bu çalışmada hepatic ve ekstrahepatic tutulumu olan kist hidatik vakalarının klinik ve laboratuvar bulgularını karşılaştırarak serolojik, biyokimyasal ve rekürrens açısından anlamlı bir fark olup olmadığını tespit etmek amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışma retrospektif olarak planlandı. Toplam 82 hasta değerlendirildi. Hastalar, hepatic ve ekstrahepatic tutulumu olanlar olarak iki gruba ayrıldı. Hepatic tutulum 45 hastada, ekstrahepatic tutulum ise 37 hastada saptandı.

**Bulgular:** Hepatic tutulumu olan grupta 20 erkek ve 25 kadın hasta vardı. Hastaların ortalama yaşı 47 idi. Laboratuvar tetkiklerinde; %25'inde lökositoz ve %4'ünde eozinofili belirlendi. Hastaların %44'ünde C-reaktif protein (CRP), %8'inde globulin fraksiyonu, %35'inde karaciğer fonksiyon testleri (KCFT) veya bilirubin değerlerinde artma saptandı. Hastaların %60'ında indirekt hemaglutinasyon antikor (IHA) testi pozitif bulundu. 20 hastada rekürrens saptandı. Ekstrahepatic tutulumu olan grupta 14 erkek

<sup>1</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Intensive Care Unit, Ankara

<sup>2</sup>University of Health Sciences, Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Oncology Training and Research Hospital, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Ankara

<sup>3</sup>University of Health Sciences Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Oncology Training and Research Hospital, Department of General Surgery, Ankara,

<sup>4</sup>University of Health Sciences, Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Oncology Training and Research Hospital, Department of Orthopedics, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Duygu MERT

Ankara Onkoloji EAH. Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği Ankara - Türkiye

Tel : +90 506 648 62 79 E-posta / E-mail : drduygumert@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 07.11.2018

Kabul Tarihi / Accepted : 28.06.2019

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2019.99076

Habiloglu AD, Mert D, Karaman N, Togrul G, Ertek M. Cystic echinococcosis cases in a tertiary hospital between 2006 and 2016  
Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(4): 453-460

of liver function test (LFT) or bilirubin were found. Indirect hemagglutination antibody (IHA) test was positive in 60% of patients. 20 patients had recurrence. In group of extrahepatic involvement 14 patients were male and 20 patients were female. The mean age of the patients was 48. In the laboratory examination; in 16% of patients leukocytosis and in 5% of patients eosinophilia were detected. In 8% of patients increase of globulin fraction, in 16% of patients increase of CRP, in 38% of patients increase of LFT or bilirubin were detected. In 50% of patients IHA test positivity were found. 17 patients had recurrence.

**Conclusion:** In the group with hepatic involvement, leukocytosis, CRP increase, diabetes mellitus (DM) comorbidity, IHA test positivity and recurrence development were higher compared to the extrahepatic patients. The increase in globulin fraction, LFT or bilirubin increase, eosinophilia, gender distribution, mean age and underlying malignancy were similar in both groups. No statistically significant difference was found between the findings of the hepatic involvement and extra hepatic involvement.

**Key Words:** Echinococcosis, hepatic involvement, extrahepatic involvement

ve 20 kadın hasta vardı. Hastaların ortalama yaşı 48 idi. Laboratuvar tetkiklerinde; hastaların %16'sında lökositoz ve %5'inde eozinofili saptandı. Hastaların %16'sında CRP, %8'inde globulin fraksiyonu, %38'inde KCFT veya bilirubin artışı vardı. Hastaların %50'sinde IHA testi pozitif bulundu. 17 hastada rekürrens saptandı.

**Sonuç:** Karaciğer tutulumu olan grupta; lökositoz, CRP artışı, diabetes mellitus (DM) komorbiditesi, IHA test pozitifliği ve nöks gelişimi ekstrahepatik tutulumu olan gruba göre daha yüksek saptandı. Her iki grupta da globülin fraksiyonu, KCFT veya bilirubin artışı, eozinofili, cinsiyet dağılımı, yaş ortalaması ve altta yatan malignite yönünden sonuçlar benzer bulundu. Hepatik ve ekstrahepatik tutulumu olan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

**Anahtar Kelimeler:** Ekinokokkozis, hepatic tutulum, ekstrahepatik tutulum

## INTRODUCTION

Echinococcosis is a zoonotic disease caused by *Echinococcus* species of the cestode class. It is an infectious disease seen in many parts of the world, which is the cause of significant morbidity and mortality (1). There are four main *Echinococcus* species which are *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis*, *Echinococcus oligarthrus* and *Echinococcus vogeli*. *Echinococcus* needs an intermediate and a definitive host to continue his life cycle (1). *Echinococcus granulosus* is the most frequent factor of disease (2). The definitive host for all species is the carnivorous animals fed by the intermediate host and after oral

ingestion intermediate hosts are mammals in which parasitic larvae form can be placed (3). Humans are not intermediary hosts, but as random hosts they take place in the life cycle of parasite (1). The aim of this study was to compare the clinic and laboratory findings in hepatic and extrahepatic involvement of hydatid cysts cases and to determine whether there was a significant difference in terms of serological, biochemical and recurrence in both groups.

## MATERIAL and METHOD

The study was planned as a retrospective study.



University of Health Sciences Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Oncology Training and Research Hospital Education Planning Board approval was obtained (Approval date: 16.06.2016 ).

The data of 82 patients who were followed up and treated the diagnosis of cystic echinococcosis and who were analyzed during the period from 01/01/2006 to 01/01/2016.

Results of the patients were recorded electronically from the health records. The demographic data of the patients and their other informations were recorded in a pre-prepared form.

18 years and older patients with cystic echinococcosis, and who had clinical, laboratory and serological were included in the study. Patients who were under 18 years old, pregnant patients and without cystic echinococcosis were excluded from the study.

The following information were recorded. Age, sex, leukocyte, eosinophil, C-reactive protein (CRP), liver function test (LFT), bilirubin, indirect haemagglutination antibody (IHA) test, presence of immunosuppressive chronic disease and recurrence. The laboratory findings of patients were evaluated.

SPSS (IBM SPSS Statistics 24) program was used in the comparison of statistical data. The data were entered into statistical software program and analyzed by using the same computer software program. In order to interpret the findings, frequency tables and descriptive statistics were used. In the analysis of the relations between two qualitative variables, "x<sup>2</sup>-cross tables" were used according to the expected value levels (Pearson, Yates-continuity correction).

## RESULTS

A total of 82 patients were evaluated in this study. We found hepatic involvement in 45 patients (55%), lung involvement in 6 patients (7%), muscle involvement in 6 patients (7%), spleen involvement in 3 patients (4%), kidney involvement in 4 patients (5%), bone

involvement in 13 patients (16%), adrenal involvement in 1 patient (1%) and multiple organ involvement in 4 patients (5%). Patients were examined in two groups as hepatic and extrahepatic involvement. 20 patients (45%) were male and 25 patients (55%) were female in group of hepatic involvement (Table 1). The mean age of the patients was 47 years (Table 1). In 25% of patients leukocytosis, in 4% of patients eosinophilia, in 8% of patients increase of globulin fraction, in 44% of patients increase of CRP, in 35% of patients increase of LFT or bilirubin and in 60% of patients IHA test positivity were found (Table 2). In 13% of patients malignancy and in 11% of patients diabetes mellitus (DM) were found to be underlying diseases. The cystic echinococcosis recurrence was found as 7% (Table 1).

In group of extrahepatic involvement 14 patients (55%) were male and 20 patients (55%) were female. The mean age of the patients was 48 (Table 1). In 16% of patients Leukocytosis, in 5% of patients eosinophilia, in 8% of patients increase of globulin fraction, in 16% of patients increase of CRP, in 38% of patients increase of LFT or bilirubin and in 50% of patients IHA test positivity were found (Table 2). In 11% of patients malignancy and in 6% of patients diabetes mellitus (DM) were found to be underlying diseases. The disease recurrence was found as 3% (Table 1). No statistically significant difference was found between the findings of the two groups (Table 3).

## DISCUSSION

Echinococcosis is endemic in our country. Mostly the liver is involved, but other organ involvement may also occur (4, 5). In Kaplan's study, isolated hepatic and extrahepatic involvement rates were found as 79.8% and 16.7% respectively (6). In the study of Gavidia et al in the rural Peruvian population, they found the ratio of hepatic involvement of the lung as 5/1 and rates were between 3/1 and 13/1 in different studies (7). Menghebat et al in their study with 15,289 patients, found the involvement of the liver as 75.2%,

**Table 1.** The comparison of patients with extrahepatic and hepatic involvement in laboratory findings

	The hepatic involvement (45 patients)	The extrahepatic involvement (37 patients)
Leukocytosis	11	6
Eosinophilia	2	2
Increase in Globulin Fraction	3/37	2/24
CRP	4/9	1/6
LFT or bilirubin increase	16/45	14/37
IHA test	17/28	11/22
Malignancy	6	4
DM	5	2
Recurrence	3	1
The mean age	47	48
Gender	20 M 25 F	17 M 20 F

**Table 2.** The comparison of patients with extrahepatic and hepatic involvement in positive laboratory findings (%)

	The hepatic involvement: 45 patients (55%)	The extrahepatic involvement: 37 patients (45%)
Leukocytosis	25%	16%
Eosinophilia	4%	5%
Increase in Globulin Fraction	8%	8%
CRP increase	44%	16%
AST/ALT GGT/ALP BIL. increase	35%	38%
IHA +	60%	%50

**Table 3.** The statistical analysis in comparison of some findings

Variable	Involvement			Statistical analysis * Probability
	Hepatic	Extra hepatic	Total	
<b>Gender</b>				
Male	20 (%44,4)	17 (%45,9)	37 (%45,1)	$\chi^2=0,018$
Female	25 (%55,6)	20 (%54,1)	45 (%54,9)	$p=0,892$
<b>Leukocytosis</b>				
Yes	11 (%24,4)	6 (%16,2)	17 (%20,7)	$\chi^2=0,837$
No	34 (%75,6)	31 (%83,8)	65 (%79,3)	$p=0,360$
<b>Eosinophilia</b>				
Yes	2 (%4,4)	2 (%5,4)	4 (%4,9)	$\chi^2=0,040$
No	43 (%95,4)	35 (%94,6)	78 (%95,1)	$p=0,841$
<b>Globulin fraction elevation</b>				
Yes	4 (%10,5)	1 (%4,3)	5 (%8,2)	$\chi^2=0,138$
No	34 (%89,5)	22 (%95,7)	56 (%91,8)	$p=0,711$
<b>CRP Elevation</b>				
Yes	5 (%50,0)	-	5 (%31,2)	$\chi^2=2,347$
No	5 (%50,0)	6 (%100,0)	11 (%68,8)	$p=0,126$
<b>LFT/Bilirubin elevation</b>				
Yes	16 (%35,6)	13 (%35,1)	29 (%35,4)	$\chi^2=0,002$
No	29 (%64,4)	24 (%64,9)	53 (%64,6)	$p=0,968$
<b>IHA positivity</b>				
Yes	17 (%60,7)	10 (%47,6)	27 (%55,1)	$\chi^2=0,832$
No	11 (%39,3)	11 (%52,4)	22 (%44,9)	$p=0,362$
<b>Malignancy</b>				
Yes	7 (%15,6)	3 (%8,1)	10 (%12,2)	$\chi^2=0,471$
No	38 (%84,4)	34 (%91,9)	72 (%87,8)	$p=0,492$
<b>Recurrence</b>				
Yes	3 (%6,7)	1 (%2,7)	4 (%4,9)	$\chi^2=0,099$
No	42 (%93,3)	36 (%97,3)	78 (%95,1)	$p=0,753$

\*In the examination of relations of two qualitative variables, "x2-cross tables" were used according to the expected value levels.

lung as 22.4%, abdominal and pelvic area as 5.2%, spleen as 1%, kidney and brain as 0.4% (8).

Esgin et al showed that the most frequent locations of hydatid cysts in human are 65% in the liver, 13% in the lungs, 17.4% in the lung-liver and 4.4% in the spleen (9). In the study of Demirci et al 459 cases were diagnosed pathologically and 61% hepatic involvement, 32.7% extrahepatic involvement and 6.3% both hepatic and extrahepatic involvement were found (10). In 131 serologically proven cases of echinococcosis by Force et al, 87 patients (66.5%) had developed liver involvement, 18 patients (13.8%) had developed lung involvement, 14 patients (10.6%) had developed other single organ involvement (11). In our study; 45 patients (55%) had hepatic involvement, 6 patient (7%) had lung involvement, 6 patients (7%) had muscle involvement, 3 patients (4%) had spleen involvement, 4 patients (5%) had kidney involvement, 13 patients (16%) had bone involvement, 1 patient (1%) had adrenal involvement, 4 patients (5%) had multiple organ involvement. Since our study was performed in an oncology center, the rate of extra hepatic involvement was higher than most studies, but it was in similar proportions with the literature.

In other studies, it was reported that the sensitivity of IHA ranged from 54% to 94% (12). In the study of Isitmangil et al 128 of 174 patients (74.4%) with thoracic hydatid cyst IHA was serologically positive (13). Agacfidan et al reported IHA positivity incidence as 60% in hepatic hydatid cyst and this rate was 12.5% in extrahepatic hydatid cyst cases (14). In the study of Kaplan et al 34,5% IHA positivity was detected in 67 hepatic and 17 extrahepatic cases (6). In the study of Erkan, IHA positivity was detected as 75% for the liver echinococcus and 42% for the lung echinococcosis (12). Gavidia et al, in the serological evaluation of the radiologically diagnosed echinococcus patients found the highest positivity rate as 32.7% in entire group and reported that the size, location, stage, and immunological status of the cyst was influential in the development of serological

response (15).

In our study, 60% of the patients with hepatic involvement had IHA positivity and in the group with extrahepatic involvement IHA positivity was detected as 50%.

Leukocytosis, particularly associated with eosinophilia, may be seen as an inflammatory response in early infection (15). Leukocytosis and eosinophilia can develop in liver involvement (1). In the study of Sahin et al, high gamma glutamyl transferase (GGT) was detected in 117 patients with hepatic involvement and in 19 patients with extrahepatic involvement, leukocytosis was detected in 4 patients and eosinophilia was detected in 1 patient (16). In the study of Pitt et al, in 24 patients with hepatic involvement, 43% of patients had eosinophilia, 17% of patients had leukocytosis, and 50% of patients had high LFT which was predominantly alkaline phosphatase (17). In study of Behrns et al with 23 hepatic hydatid cysts patients, eosinophilia was detected in 55% of patients and high alkaline phosphatase (ALP) was detected in 29% of patients (18). In the study of Safioleas et al eosinophilia was detected in 34% of cases and high ALP was detected in 34% of 132 liver cyst hydatid cases, including 12 extrahepatic involvement (19). Uysal et al, in their study with 15 patients with liver, lung, kidney, spleen and intraabdominal echinococcus found leukocytosis in 46.7% of cases, eosinophilia in 20%, GGT elevation in 26%, ALP elevation in 13% (20).

In our study, in patients with hepatic involvement; we found leukocytosis in 25% of patients, eosinophilia in 4% of patients, increase of globulin fraction in 8% of patients, increase of CRP in 44% of patients, increase of LFT or bilirubin in 35% of patients and IHA test positivity in 60%. In patients with extrahepatic involvement; we found leukocytosis in 16% of patients, eosinophilia in 5% of patients, increase of globulin fraction in 8% of patients, increase of CRP in 16% of patients, increase of LFT or bilirubin in 38% of patients and IHA test positivity in 50% of patients.

In the literature, eosinophilia and leukocytosis have been detected in a wide range and in different ratios. The increase of LFT in this study was similar in both groups and both group had similar data to the literature.

Refik et al, in their study with 28 cystic echinococcosis patients, expressed diagnostically significant increase in CRP (21). In the study of Wellinghausen et al, the CRP elevation was found as 39.4% for 40 patients with *Echinococcus* due to *E. alveolaris* (22). In Sura's study, the CRP increase was detected in 14% of 20 cases with liver cystic echinococcosis (23). In our study, the CRP increase was detected as 44% in hepatic involvement group and as 16% in extrahepatic involvement group. The ratio of CRP increase was higher in hepatic involvement group. This result was attributed to a more intense

response of inflammation in the liver, a part of the reticuloendothelial system.

In conclusion, Echinococcosis, which is seen in our country and especially in rural areas, is often accompanied by hepatic involvement, occasionally with extrahepatic involvement. In our study, laboratory and clinical findings of patients with hepatic involvement and hepatic involvement were compared. Leukocytosis, CRP increase, DM, IHA test positivity and recurrence development were more frequent in the hepatic involvement group. The increase in globulin fraction, LFT or bilirubin increase, eosinophilia, gender distribution, mean age and underlying malignancy were similar in both groups. No statistically significant difference was found between the findings of the hepatic involvement and extra hepatic involvement.

## REFERENCES

1. Yılmaz GR, Babur C. Diagnosis of echinococcosis. Turk Hij Den Biyol Derg, 2007; 64(3): 35-44.
2. Kılınç N, Uzunlar AK, Ozaydın M. Uncommonly localized cases of echinococcosis (Report of 45 cases). Tr J Ecpathol, 2003; 9(1-2): 25-30.
3. Koksall AS, Arhan M, Oguz D. Kist hidatik. Guncel Gastroenteroloji, 2004; 8(1): 61-67.
4. Ozin Y, Kilic ZMY, Parlak E, Kacar S, Turhan N, Sasmaz N, et al. Hepatic Echinococcus multilocularis (alveolaris), case report and review of the literature. Turk J Gastroenterol, 2008; 7(2): 106-110.
5. Arslan MK, Eren A, Karanfil R, Cekin C. The hydatid cyst in sudden deaths. Journal of Forensic Medicine, 2007; 21(2): 20-24.
6. Kaplan M, Aygen E, Ozyurtkan MO, Bakal U. Cystic echinococcosis cases in Firat University Hospital Between 2005 and 2007. FU Sag Bil Tıp Derg, 2010; 24(2): 109-113.
7. Gavidia CM, Gonzalez AE, Zhang W, McManus DP, Lopera L, Ninaquispe B, et.al. Diagnosis of cystic echinococcosis, central Peruvian Highlands. Emerg Infect Dis, 2008; 14(2): 260-266.

8. Menghebat L, Jiang L, Chai J. A retrospective survey for surgical cases of cystic echinococcosis in the Xinjiang Uygur Autonomous Region, PRC (1951-90). In: Andersen F, Chai J, Liu F, eds. Compendium on Cystic Echinococcosis with Special Reference to the Xinjiang Uygur Autonomous Region, People's Republic of China. Provo: Brigham Young University Print Services, 1993: 135-145.
9. Esgin M, Aktas M, Coskun S. The investigation of antibody presence in the sera of patients with a suspicion of cystic echinococcosis by using indirect hemagglutination test (IHA). *Turkiye Parazitoloj Derg*, 2007; 31(4): 283-2.
10. Demirci E, Altun E, Calık M, Subası ID, Sıpal S, Gundogdu OB. Hydatid cyst cases with different localization: region of Erzurum. *Turkiye Parazitoloj Derg*, 2015; 39: 103-107.
11. Force L, Torres JM, Carrillo A, Buscà J. Evaluation of eight serological tests in the diagnosis of human echinococcosis and follow-up. *Clin Infect Dis*, 1992; 15(3): 473-480.
12. Erkan H.D. Akciğer kist hidatiğinde serolojik testlerin (spesifik IgE, spesifik IgG ve indirek hemagglütinasyon testi) tanısal değeri. Uzmanlık tezi. T.C. Sağlık Bakanlığı Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Merkezi, İstanbul, 2004.
13. Isitmangil T, Gorur R, Yiyit N, Erdik O, Yıldızhan A, Candas F, et al. Evaluation of 308 patients surgically treated for thoracic hydatidosis. *Turk Gogus Kalp Damar*, 2010; 18(1): 27-33.
14. Agacfidan A, Badur S, Hazar H, Emre A, Cetin ET. Comparison of the indirect hemagglutination test and enzyme immunoassay for serodiagnosis of hydatid cyst. *Klimik Derg*, 1992; 5(2): 107-109.
15. Gavidia GM. Cystic echinococcosis in Peru: human prevalence study and chemotherapy evaluation in sheep. Ann Arbor: ProQuest LLC, 2009.
16. Sahin EM, Yuksek YN, Daglar G, Gozalan U, Kama NA. Diagnosis and treatment of hydatid cysts: results of 120 patients. *Balkan Med J*, 2008; 25(1): 6-14.
17. Pitt HA, Korzellus J, Tompkins RK. Management of hepatic echinococcosis in Southern California. *Am J Surg*, 1986; 152(1): 110-115.
18. Behrns KE, van Heerden JA. Surgical management of hepatic hydatid disease. *Mayo Clin Proc*, 1991; 66: 1193-1197.
19. Safioleas M, Misiakos E, Manti C, Katsikas D, Skalkeas G. Diagnostic evaluation and surgical management of hydatid disease of the liver. *World J Surg*, 1994; 18: 859-865.
20. Uysal S, Uyan A, Tasbakan MI, Sipahi OR, Yamazhan T, Pullukcu H, et al. Clinical evaluation of fifteen cases of hydatid disease. *Mediterr J Infect Microb Antimicrob*, 2015; 4: 13.
21. Refik M, Mehmet N, Durmaz R. Postoperative changes in serum cytokines profile and oxide levels in patients with cystic echinococcosis. *Parasite*, 2005; 12: 265-269.
22. Wellinghausen N, Jöchle W, Reuter S, Flegel WA, Grünert A, Kern P. Zinc status in patients with alveolar echinococcosis is related to disease progression. *Parasite Immunol*, 1999; 21(5): 237-41
23. Sura BK. A study of some biochemical changes in hydatid cyst patients before and after surgical removal of hydatid cyst. *AJPS*, 2013; 13(2): 103-108.

## HIV ile enfekte obez bireylerde Sistatin-C

### Cystatin-C in HIV-infected obese individuals

Dilek YAĞCI-ÇAĞLAYIK<sup>1</sup>, Hakkı ARIKAN<sup>2</sup>, Serpil ÇEÇEN<sup>3</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Sistatin-C böbrek fonksiyonlarını gösteren glomerüler filtrasyon hızını (GFR) belirlemede kullanılan bir parametre olup obezitede arttığı bilinmektedir. Bu çalışmada amacımız HIV ile enfekte olan obez bireylerde GFR hesaplamasında Sistatin-C'nin etkisini araştırmaktır.

**Yöntem:** Enfeksiyon Hastalıkları HIV polikliniğine başvuran HIV ile enfekte hastalardan obez olanlar çalışmaya dahil edildi. Bireylerin düz bir zeminde çıplak ayakla ve sırtları duvara gelecek şekilde dururken boy uzunlukları ölçüldükten sonra bioimpedans cihazında (Tip-BC-418-MAIII, Tanita Body Composition Analyzer; Tanita, Tokyo, Japan) tüm vücut analizi yapılarak kilo, beden kütle indeksi (BMI), yağ yüzdesi, yağ ağırlığı ve yağsız ağırlıkları tespit edildi. Biyokimyasal verilerine retrospektif olarak ulaşılarak değerlendirme yapıldı. Sistatin-C, kreatinin değerleri ölçülmüş olan hastaların CKD- EPI GFR (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation glomerular filtration rate), GFRcr (kreatinin-GFR), GFRcys (sistatin-GFR) ve GFRcr-cys (kombine-GFR) değerleri hesaplandı.

**Bulgular:** Yağ yüzdesi fazlalığı %9.21'in üstünde olan HIV ile enfekte bireylerde (n=5), sistatin-C'nin; vücut ağırlığı ve total kolesterol ile orantılı olarak yüksek bir

#### ABSTRACT

**Objective:** Cystatin-C is a parameter used to determine the glomerular filtration rate (GFR) which indicates renal function. It is also known that cystatin-C increases in obesity. The aim of this study was to investigate the effect of cystatin-C on GFR calculation in HIV-infected obese individuals.

**Methods:** Female and male HIV-infected obese patients who applied to the Infectious Diseases outpatient clinic were included in the study. Their heights were measured while they were barefooted and back touching a wall. The weight, body mass index (BMI), fat percentage, fat mass and fat free mass, were determined using Bio-impedance analyzer device (Tip-BC-418-MAIII, Tanita Body Composition Analyzer; Tanita, Tokyo, Japan). Biochemical data of patients were evaluated retrospectively. CKD- EPI GFR (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation glomerular filtration rate), GFRcr (creatinin-GFR), GFRcys (cystatin-GFR) ve GFRcr-cys (combined-GFR) were calculated using creatinin and cystatin-C values.

**Results:** Cystatin-C proportionally increased with a high correlation with body weight and total cholesterol, and decreased with GFRcr, GFRcys, GFRcr-cys in the

<sup>1</sup>Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği, İstanbul

<sup>2</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı- Nefroloji, İstanbul

<sup>3</sup>Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Spor Fizyolojisi Bölümü, İstanbul



İletişim / Corresponding Author : Serpil ÇEÇEN

Marmara Ü Pendik EAH Spor Fizyolojisi 34050 İstanbul - Türkiye

Tel : +90 505 278 82 37

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

Geliş Tarihi / Received : 30.10.2019

Kabul Tarihi / Accepted : 24.11.2019

korelasyon ile arttığı saptanırken GFR cre, GFR cys, GFR cre-cys artışı ile orantılı olarak azaldığı tespit edildi. Yağ yüzdesi fazlalığı %9.21 altında olan HIV ile enfekte bireylerde (n=29) ise sistatin-C'nin GFRcys ile orantılı olarak azaldığı tespit edildi.

**Sonuç:** HIV ile enfekte ve yağ dokusu yüksek olan bireylerde vücut ağırlığı ile sistatin-C arasındaki artışın daha yüksek korelasyon ile gösterilmesi, HIV enfeksiyonundan kaynaklanan inflamasyonun ve fazla yağ dokusunun sistatin-C nin yükselmesine katkıda bulunmuş olabileceğini düşündürmüştür. Bu konuda daha geniş serilerde daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** HIV enfeksiyonu, GFR, obezite, yağ dokusu

group of HIV infected and excess fat percentage over 9.21%. Cystatin-C decreased with GFRcys in the group of HIV infected and excess fat percentage under 9.21%.

**Conclusion:** Higher correlation with cystatin-C and high body weight in HIV infected with excess fat percentage obese individuals suggests that inflammation due to HIV infection and excess fat mass together contribute to cystatin-C increasing levels. More studies are needed in large number of groups.

**Key Words:** HIV infection, GFR, obesity, fat mass

## GİRİŞ

Dünyada olduğu gibi ülkemizde de obezite en önemli sağlık sorunlarından biri haline gelmiş durumdadır (1,2). Vücutta yağ dokusunun artmasıyla karakterize olan obezitenin diabet, kardiyovasküler hastalıklar (3) ve böbrek hastalıkları (4) gibi kronik hastalıklara zemin hazırladığı bilinmektedir. Vücut Kitle İndeksi (BMI) artışının erken dönem böbrek hastalıkları için bağımsız bir risk faktörü olduğu bilinmektedir (5).

Son yıllarda yapılan çalışmalar vücutta yağ dokusu artmasının inflamasyonu tetiklediğini ve bu nedenle obezitenin 'düşük dereceli inflamasyon' olduğu bilinmektedir (6). Obezite ve inflamasyon ilişkisi ortaya konulduktan sonra bu konuda yapılan çalışmalar da hız kazanmıştır. Çeşitli inflamatuvar markerların obezitede arttığını gösteren çalışmalar artarak devam etmektedir.

Son yıllarda yapılan sınırlı sayıda çalışmada sistatin-C'nin de inflamasyonla ilişkili olduğuna dair veriler bulunmaktadır (7). İnsanlarda sistatin C nin normal damar yapısında bulunduğu, aterosklerik

damarda katepsin S'nin arttığı ve sistatin-C nin azaldığı gösterilmiştir (8). Obezite ve sistatin-C ilişkisini gösteren çalışmalar sınırlı olmakla birlikte sistatin-C nin BMI ve yağ dokusu ile orantılı olarak arttığı gösterilmiştir (5). Sistatin-C'nin düşük moleküler ağırlıklı olması (9) ve vücut kas dokusundan etkilenmemesi nedeniyle böbrek fonksiyonlarını takip etmede kreatinininden daha anlamlı ve güvenilir olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (10). Kardiyovasküler hastalık ve son dönem böbrek hastalığı riskini daha erken dönemde tespit etmek için kreatinin ve sistatin-C'nin Glomerüler Filtrasyon Hızı (GFR) hesaplamasında beraber kullanımı önerilmektedir (11). HIV ile enfekte hastalarda sistatin-C seviyesinin yüksek olabileceği ve bu durumun metabolik sendrom için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (12). Ayrıca HIV enfekte bireylerde Hepatit B ve C enfeksiyonuna yakalanma riskinin yüksek olması, virüsün kendisinin böbreklere doğrudan etkisi gibi nedenlerle böbrek hastalığı riskinin yüksek olduğu bilinmektedir (13). HIV enfekte bireylerde kas dokusu azalmasının (14)



serum kreatinin seviyesini etkilediği ve bu nedenle bu kişilerde GFR hesaplanırken sistatin-C kullanılması kreatinine göre daha güvenilir bir parametre olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (15).

Bu çalışmada amacımız; HIV hastalarında GFR hesaplanırken kullanılması önerilen ve obezitede de arttığı bilinen sistatin-C'nin, obez HIV hastalarında böbrek fonksiyonlarını belirlemedeki yerini araştırmaktır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Enfeksiyon Hastalıkları HIV polikliniğine başvuran HIV enfekte hastalardan obez olanlar (n=34) çalışmaya dahil edildi. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra çalışmaya başlandı (No: 09.2019.369). Bireylerin biyokimyasal verilerine ulaşılarak geriye yönelik olarak değerlendirme yapıldı. Başvuran bireylerin düz bir zeminde çıplak ayakla ve sırtları duvara gelecek şekilde dururken boy uzunlukları ölçüldükten sonra bioimpedans cihazında (Tip-BC-418-MAIII, Tanita Body Composition Analyzer; Tanita, Tokyo, Japan) tüm vücut analizi yapılarak kilo, vücut kitle indeksi (BMI), yağ yüzdesi, yağ ağırlığı ve yağsız ağırlıkları tespit edildi. Nefropati öyküsü olan ve GFRcre <60ml/min/1.73m<sup>2</sup> tespit edilenler, kortikosteroid kullanan, tiroid hastalığı ve diyabet öyküsü olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Bu özellikleri taşıyan 2 hasta çalışma dışı bırakıldı. Sistatin-C, kreatinin değerleri ölçülmüş olan hastaların CKD-EPI GFR (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation glomeular filtration rate), GFRcr (kreatinin-GFR), GFRcys (sistatin-GFR) ve GFRcre-cys (kombine-GFR) değerleri hesaplandı.

İstatistiksel Analiz: Çalışma kapsamında toplanan hasta verileri IBM Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows 21.0 paket programı ile analiz edildi. Kesikli veriler için sıklık ve yüzde, sürekli veriler için ortalama±standart sapma tanımlayıcı değer olarak verildi.

Çalışmaya katılan hasta sayısı 50'nin altında

olduğu için normal dağılıma uygunluk değerlendirmesi için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Normal dağılıma uyduğu için, sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında "Pearson Korelasyon Analizi" kullanıldı. Sonuçlar, p değerinin 0.05'den küçük olduğu durumlarda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Biyokimyasal ve antropometrik bulgulara ait değerler Tablo 1'de görülmektedir.

Kreatinin değerlerinin kilo, BMI ve yağ ağırlığının birlikte değişmediğini ancak kas ağırlığı ile pozitif yönde korelasyon olduğunu tespit ettik. Sistatin-C'nin; kilo, BMI, yağ ağırlığı ve kas ağırlığı ile birlikte değişmediğini tesbit ettik. GFRcre değerlerinin vücut ağırlığı ve BMI ile azaldığını, GFRcys değerlerinin BMI ile azaldığını tespit ettik (Tablo 2,3,4,5).

## TARTIŞMA

HIV ile enfekte olan obez bireylerde sistatin-C'nin obezite parametrelerinden etkilenmediğini tespit ettik.

HIV enfeksiyonu olan obez bireylerde sistatin-C'nin durumunu gösteren literatür kaynağı çok az olmakla birlikte metabolik sendromu olan HIV ile enfekte bireylerde yapılan çalışmalarda sistatin-C'nin arttığı gösterilmiştir (12). Yapılan diğer bir çalışmada ART tedavisi sonrası vücuttaki inflamatuvar markerların azalmasının kilo artışına ve abdominal yağ dokusunun artmasına neden olabileceği, bu artışın da metabolik sendroma yol açabileceği düşünülmüştür (16). HIV enfeksiyonunun kendisinden kaynaklanan inflamasyonun yanısıra, HIV enfekte obez bireylerdeki inflamasyonun patofizyolojisini anlamak için ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir (17). HIV enfekte kadınlarda yapılan bir çalışmada abdominal yağ dokusu fazla olanlarda kardiyak risklerin de arttığı gösterilmiştir (18). HIV enfekte bireylerde sistatin-C ile böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek için

**Tablo 1.** HIV enfekte bireylere ilişkin tanımlayıcı özellikler

HIV enfekte bireyler (n=32)	
	Ortalama ± Standard sapma
Kreatinin (mg/dL)	0.91±0.14
Sistatin-C (mg/L)	0.99±0.18
TSH (mIU/L)	1.85±1.12
GFRcre (mL/dk)	100.8±15.3
GFRcys (mL/dk)	87.3±20.5
GFRcre-cys (mL/dk)	92.8±16.5
Total kolesterol (mg/dL)	195.9±50.1
LDL kolesterol (mg/dL)	123.7±34.4
HDL kolesterol (mg/dL)	41.4±10.2
Trigliserid (mg/dL)	158.9±94.8
Vücut Ağırlığı (kg)	83.5±9.5
BMI kg/m <sup>2</sup>	28.6±4.4
Yağ yüzdesi (%)	22.7±8.5
Yağ ağırlığı (kg)	19.4±8.8
Kas ağırlığı (kg)	64.2±7.2

Cre : Kreatinin, Cys: Sistatin, GFRcre: Glomerüler filtrasyon hızı kreatinin, GFRcys: Glomerüler filtrasyon hızı sistatin, GFRcre-cys: Glomerüler filtrasyon hızı kreatinin-sistatin, BMI: Vücut kütle indeksi

**Tablo 2.** HIV enfekte bireylerde vücut ağırlığının sistatin-C, kreatinin ve GFR değerleri ile ilişkisi

HIV- POZİTİF	Vücut Ağırlığı	
	r	p
Sistatin-C	0.237	0.216
Kreatinin	0.176	0.343
GFRcre	-0.460	0.011
GFRcys	-0.283	0.137
GFRort	-0.388	0.038

**Tablo 3.** HIV enfekte bireylerde vücut kitle indeksinin (BMI) sistatin-C, kreatinin ve GFR değerleri ile ilişkisi

	BMI	
	r	p
Sistanin-C	0.333	0.077
Kreatinin	-0.050	0.789
GFRcre	-0.434	0.016
GFRcys	-0.409	0.028
GFRort	-0.469	0.010

BMI: Vücut kütle indeksi

**Tablo 4.** HIV enfekte bireylerde yağ ağırlığının sistatin-C, kreatinin ve GFR değerleri ile ilişkisi

	Yağ Ağırlığı	
	r	p
Sistanin-C	0.240	0.209
Kreatinin	-0.262	0.155
GFRcre	-0.254	0.175
GFRcys	-0.324	0.087
GFRort	-0.308	0.104

**Tablo 5.** HIV enfekte bireylerde kas ağırlığının sistatin-C, kreatinin ve GFR değerleri ile ilişkisi

	Kas Ağırlığı	
	r	p
Sistanin-C	0.027	0.888
Kreatinin	0.547	0.001
GFR cre	-0.286	0.125
GFR cys	0.012	0.952
GFR ort	-0.138	0.477

yapılan geniş kapsamlı bir çalışmada kilo, BMI, yağ yüzdesi ve yağ ağırlığı gibi antropometrik değerlerle sistatin-C ilişkisini gösteren verilerin çalışmada kısıtlı kullanıldığı görülmüştür (19).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda sistatin-C'nin BMI ile arttığı gösterilmiş olup, BMI artışının da böbrek hastalıkları için bağımsız bir risk faktörü olduğu düşünülmüştür. Obezitede mikro veya makroalbuminuri, ileri evre böbrek hastalığı görülme riskinin, yükselmiş sistatin-C seviyesiyle ilişkili olduğu görülmüştür (5). Obezitede yağ dokusunun inflamasyon markerlarının salınımını artırdığı, sistatin-C'nin de salınımının inflamasyona sekonder olarak arttığı düşünülebilir. Bu bulguyu doğrular nitelikte son zamanlarda yapılan çalışmalarda sistatin-C'nin yağ dokusundan salgılandığına dair verilere rastlanmaktadır (20). Bu durum obez bireylerde GFR hesaplanmasında sistatin-C'nin kullanılmasının ne derece güvenilir olduğu sorusunu akla getirmektedir. Sistatin-C'nin kas dokusundan etkilenmediği bilinmekte olup bel çevresi yüksek erişkinlerde yapılan bir çalışmada sistatin-C'nin arttığı tespit edilmiş olsa da sistatin-C obezite ilişkisini incelerken BMI ve bel çevresi ölçümünden ziyade daha objektif olabilecek olan yağ dokusu ölçümüne yoğunlaşmak gerektiği düşünülmektedir. (5). Sistatin-C'nin subkutanöz ve omental adipoz dokudan salınımının arttığı gösterilmiş olması bel çevresi genişlemiş metabolik sendrom vakalarında sistatin-C yüksekliğinin nedenini açıklar nitelikte

görölmektedir (21).

Bu çalışmada hastaların ortalama BMI değeri 28,6 olarak tesbit edilmiş olup obezite sınıflamasına göre aşırı kilolu olarak tanımlandı. Sistatin-C değerinin bu hastalarda GFR parametresi olarak rahatlıkla kullanılabileceği, yağ dokusundan, vücut ağırlığından etkilenmediği gösterildi. Yağ dokusundan da salındığı belirtilen sistatin-C değerinin obezitenin aşırı kilolu sınıfından daha üst sınıflarında, yağ doku fazlalığı arttıkça yükselebileceği düşünülmüştür. Bu çalışmadaki aşırı kilolu hastalarda böbrek fonksiyonlarını değerlendirmede sistatin-C kullanımının doğru bir gösterge olduğu ve yanılmadığı ve GFR'ı daha düşük göstermediği düşünüldü. Yağ dokusundan salınan sistatin-C'nin GFR'ı yanlış düşük gösterip göstermeyeceğini söyleyebilmek için daha fazla sayıda hasta ve daha obez, yağ dokusu daha yüksek olan bireylerde yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmanın kısıtlılıkları: Hasta grubunun aşırı kilolu grupla sınırlı olması, obezite derecesi yüksek grubun ve kontrol grubunun olmaması.

## SONUÇ

Daha fazla hasta, obezite derecesi yüksek grup ve obez olmayan kontrol grubuyla çalışmanın genişletilmesi ve inflamatuvar belirteçlerle birlikte analizlerin tekrar düzenlenmesi planlanmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. GBD 2015 Obesity Collaborators, Afshin A, Forouzanfar MH, Reitsma MB, Sur P, Estep K, et al. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. *N Engl J Med* 2017; 377:13-27.
2. Oğuz A, Temizhan A, Abaci A, et al. Obesity and abdominal obesity; an alarming challenge for cardio-metabolic risk in Turkish adults. *Anadolu Kardiyol Derg* 2008; 8: 401-6.
3. Grundy SM. Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2595-600.
4. Satirapoj B, Supasyndh O, Mayteedol N, Punpanich D, Chaiprasert A, Nata N, et al. Obesity and its relation to chronic kidney disease: a population-based, cross-sectional study of a Thai army population and relatives. *Nephrology (Carlton)* 2013;18:229-34.
5. Muntner P, Winstan J, Uribarri J, Mann D, Fox CS. Overweight and obesity and elevated serum cystatin C levels in US adults. *Am J Med.* 2008 121(4):341-348. doi: 10.1016/j.amjmed.2008.01.003.
6. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:911-19.
7. Smith ER. "Cystatin C - More than a filtration marker?" *Atherosclerosis* 2013;230:173-5.
8. Shi GP, Sukhova GK, Grubb A, Ducharme A, Rhode LH, Lee RT, et al. Cystatin C deficiency in human atherosclerosis and aortic aneurysms. *J Clin Invest* 1999;104:1191-7.
9. Turk V, Bode W. The cystatins: protein inhibitors of cysteine proteinases. *FEBS Lett* 1991;285:213-9.
10. Filler G, Bokenkamp A, Hofmann W, LeBricon T, Martinez-Bru C, Grubb A. Cystatin C As A Marker of GFR -History, Indications, and Future Research. *Clinical Biochemistry.* 2005; 8:1-8.
11. Peralta CA, Shlipak MG, Judd S, Cushman M, McClellan M, Zakai NA et al. Detection of chronic kidney disease with creatinine, cystatin C, and urine albumin-to-creatinine ratio and association with progression to end-stage renal disease and mortality. *JAMA.* 2011; 305:1545-52.
12. Dragovic G, Srdic D, Musalhi KA, Soldatovic I, Kusic J, Jevtovic D, et al. Higher Levels of Cystatin C in HIV/AIDS Patients with Metabolic Syndrome. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2018;122:396-401 Doi: 10.1111/bcpt.12919.
13. Jones CY, Jones CA, Wilson IB, Knox TA, Levey AS, Spiegelman D, et al. Cystatin C and creatinine in an HIV cohort: the nutrition for healthy living study. *Am J Kidney Dis.* 2008 ;51(6):914-24. doi: 10.1053/j.ajkd.2008.01.027.
14. Kotler D. Nutritional Alterations Associated with HIV Infection. *JAIDS.* 2000; 25:81-7.
15. Massey D. Commentary: Clinical Diagnostic Use of Cystatin C. *Journal of Clinical Laboratory Analysis.* 2004; 18:55-60.
16. De Waal R, Cohen K, Maartens G. Systematic review of antiretroviral-associated lipodystrophy: lipodystrophy, but not central fat gain, is an antiretroviral adverse drug reaction. *PLoS ONE* 2013;8:e63623.

17. Neuhaus J, Jacobs DR Jr, Baker JV, Calmy A, Duprez D, La Rosa A, Kuller LH, Pett SL, Ristola M, Ross MJ, Shlipak MG, Tracy R, Neaton JD. Markers of inflammation, coagulation, and renal function are elevated in adults with HIV infection. *J Infect Dis.* 2010 Jun 15;201(12):1788-95. doi: 10.1086/652749.
18. Dolan SE, Hadigan C, Killilea, Sullivan MP, Hemphill L, et al. Increased cardiovascular disease risk indices in HIV-infected women. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;39:44-54.
19. Lucas GM, Cozzi-Leori A, Wyatt CM, Post FA, Bormann AM, Crum- Cianflone NF et al; INSIGHT SMART Study Group. Glomerular filtration rate estimated using creatinine,cystatin C or both markers and the risk of clinical events in HIV-infected individuals. *HIV Med.* 2014;15(2):116-23. doi: 10.1111/hiv.12087.
20. Naour N, Fellahi S, Renucci JF, Poitou C, Rouault C, Basdevant A, et al. Potential contribution of adipose tissue to elevated serum cystatin C in human obesity. *Obesity (Silver Spring).* 2009;17(12): 2121-6.
21. Canello R, Henegar C, Viguerie N et al. Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery-induced weight loss. *Diabetes* 2005;54:2277-86.

# Bruselloz düşünüyorum ama doğrulayamıyorum: Seronegatif Bruselloz

I think of Brucellosis but can not verify: Seronegative Brucellosis

Ahmet SERTÇELİK<sup>1</sup>, Turan BUZGAN<sup>2</sup>

## ÖZET

Bruselloz, Ortadoğu ve Akdeniz ülkeleri başta olmak üzere dünyada yaygın olarak görülen zoonotik bir enfeksiyon hastalığıdır. Ülkemiz de bruselloz açısından endemik bir bölgede yer almaktadır. Alınan tedbirlerle yıllar içinde insidanda azalma olmakla birlikte, hastalığın halk sağlığını ilgilendiren boyutu devam etmektedir. Hastalıklı hayvanlardan ısıtılmadan elde edilen süt ürünlerinin tüketimi en yaygın bulaşma kaynağıdır. Hastalığın klinik görünümü oldukça değişken olup, asemptomatik klinikten ölüme yol açabilecek ciddi komplikasyonlara varıncaya kadar çok geniş ve farklı bir klinik yelpazede karşımıza çıkabilmektedir. Tanı birçok enfeksiyon hastalığında olduğu gibi, klinik görünüm yanında laboratuvar tanıya dayanmaktadır. Serolojik laboratuvar testleri kültür ve moleküler testler yanında, tanı amacıyla hâlâ en yaygın kullanılan metotlardır. Tanı amaçlı olarak pratikte sık kullanılan serolojik testlerden brusella tüp aglutinasyon testi, bazı özel durumlarda hatalı şekilde negatif serolojik sonuç verebilmektedir. Seronegatifliğe neden olan *Brucella canis* enfeksiyonu, prozon hadisesi, blokan antikor varlığı, agamaglobulinemi, henüz antikor üretiminin yeterli olmadığı hastalığın akut başlangıç dönemi göz önüne alınarak kültür, moleküler yöntemler, özgül antijen kullanımı, Coombs' antiserumu kullanımı, dilüsyon

## ABSTRACT

Brucellosis, which is common worldwide, especially the Middle East and the Mediterranean countries, is a zoonotic infectious disease. Our country also takes place a part of the endemic region. Although the incidence decreases with the measures taken over the years, the public health aspect of the disease continues. Consumption of dairy products that were obtained without heat treatment from ill animals is the most common transmission source. The clinical of the disease is highly variable and can be seen in a wide and different clinical spectrum from asymptomatic to serious complications that may lead to death. The diagnosis is based on the laboratory diagnosis as well as the clinical presentation, as in many infectious diseases. Serological tests still are the most common methods for diagnosis as well as culture and molecular tests. As a part of serological tests, Brucella tube agglutination tests are applied frequently for diagnosis. *Brucella canis* infection, prozone phenomenon, presence of blocking antibody, agamaglobulinemia, acute infection period in which antibody production is not sufficient yet are common diagnostic faults. Diagnosis with appropriate interventions such as culture, molecular methods, use of specific antigens, use of Coombs' antibody,

<sup>1</sup>T.C. Sağlık Bakanlığı, Ankara Şehir Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara

<sup>2</sup>Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Ahmet SERTÇELİK

Üniversiteler Mah. Bilkent Cad. No:1, Nöroloji-ortopedi Hast., Çankaya Ankara - Türkiye

Tel : +90 537 343 24 69 E-posta / E-mail : ahmetsertcelik@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 01.07.2019

Kabul Tarihi / Accepted : 08.11.2019

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2019.93609

Sertçelik A, Buzgan T. Bruselloz düşünüyorum ama doğrulayamıyorum: Seronegatif Bruselloz  
Türk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(4): 469-472

miktarının arttırılması gibi uygun müdahalelerle tanıya gidilmesi yanlış serolojik değerlendirmelerin önlenmesi için olması gereken yaklaşımlardır. Ülkemizde Tarım ve Orman Bakanlığınca yürütülen çiftlik hayvanlarında brusellozun eradikasyonu çalışmaları ile vaka sayıları daha da azaldığında, hastalığın meslek hastalığı karakterinin ön plana geçmesi ve *Brucella canis* ağırlığının göreceli olarak artması da beklenen bir husustur. Bu sebeple klinik olarak brusellozdan şüphelenilen vakalarda tanı testlerinin uygun kullanımı ve ayrıntılara dikkat edilmesi, hatalı tanılarından uzaklaşılması, zaman ve tetkik israfının önlenmesi ve erken tanı konması için dikkatli olunması oldukça önemlidir. Bu derlemede bruselloz hastalığında görülen seronegatiflik nedenleri ve bu nedenlere yönelik olarak, tanı açısından dikkate alınması ve yapılması gereken hususlar ele alınmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Bruselloz, Brusella, seronegatiflik, seronegativite, aglütinasyon

increasing dilution is necessary approaches to prevent false serological evaluations. In our country, when the number of cases decreases with the eradication programs of brucellosis in farm animals carried out by the Ministry of Agriculture and Forestry, it is expected that the occupational disease character of the disease will be obvious, and *Brucella canis* related Brucellosis will increase relatively. For this reason, it is very crucial to use the diagnostic tests appropriately and to pay attention to the details, to keep away from the misdiagnoses, to avoid wasting time and examination, and to be careful in the early diagnosis in cases suspected of brucellosis clinically. In this review, the causes of seronegativity in brucellosis and issues that should be taken into consideration in terms of diagnosis for these causes.

**Key Words:** Brucellosis, Brucella, seronegativity, agglutination

## GİRİŞ

Bruselloz, *Brucella* türlerinin oluşturduğu klinik tablodur. İnsanlara özellikle küçükbaş hayvanlardan bulaşan zoonotroponoz bir hastalıktır. Sığır, köpek, domuz ve nadiren diğer hayvan türlerinden de geçişler olabilmektedir. Ülkemizin de yer aldığı Ortadoğu ve Doğu Akdeniz bölgesi başta olmak üzere dünyanın birçok bölgesinde endemiktir. Ülkemizde de kırsal bölgelerde özellikle de hayvancılığın yoğun olarak yapıldığı bölgelerde sık görülmektedir (1,2). Hastalık konusundaki duyarlılık artışı, çiftlik hayvanlarında yürütülen eradikasyon programı, pastörizasyon, ultra yüksek sıcaklık sterilizasyonu gibi gıda hijyeni tekniklerinin yaygınlaşmasıyla, ülkemizde özellikle de kentsel alanlarda görülme sıklığında azalma olmuştur (3). Son yıllarda insanlarda bruselloz görülme sıklığı yıllık 4000-7000 vaka şeklinde seyretmektedir(4).

Hastalık neredeyse semptom vermeyen tablodan birçok organ ve sistemi tutan tablolara kadar değişik kliniklerle gidebilmektedir (1). Ancak tipik klinik tablo durumlarında bile tanı konması ile ilgili

sorunlar görülebilmektedir. Altın standart olarak kabul edilen kültürde üretme için çoğunlukla inkübasyonun uzatılması gerekmekte, bazı nedenlerle mikroorganizma üretilmeyebilmektedir. Bu nedenle pratikte tanı için serolojik tetkikler ve özellikle aglütinasyon testleri daha ön planda kullanılmaktadır (1,2,5). Aglütinasyon testleri ile tanı koymada da bazı sorunlar bulunmaktadır. Bu yazıda günlük pratikte bruselloz tanısında en sık kullanılan aglütinasyon testlerinin yanlış negatiflik (seronegatiflik) nedenleri ve bu nedenlere yönelik alınabilecek önlemler ele alınacaktır.

### Seronegatiflik Nedenleri

#### *Brucella canis* enfeksiyonu:

Brusella tüp aglütinasyon ve mikroplak testlerinde, *Brucella abortus* S kolonilerinden elde edilen antijenler kullanılmaktadır. *Brucella abortus* antijenleri *Brucella canis* dışındaki *Brucella* türlerine de yeterli reaksiyon vermektedir. *Brucella canis*'e karşı duyarlılık ise



düşüktür. Bu durum *Brucella canis*'e bağlı gelişen enfeksiyonlarda tanı konulmasını zorlaştırmaktadır. Ülkemizde yapılan bir çalışmada; bruselloz nedeniyle takip edilen hastalarda 2-merkaptetanollü lam aglütinasyon tekniği ile *Brucella canis* açısından %3,9 pozitiflik bulunmuştur (6). Bir başka çalışmada sağlıklı kan donörlerindeki seropozitiflik oranı %1,6 olarak saptanmıştır (7). Ülkemizde İstanbul ve İzmir'de köpeklerde yapılan bir seroprevalans çalışmasında uygulanan tekniklere göre değişiklik olmakla birlikte %7,45 ile %12,7 arasında seropozitiflik oranları görülmüştür (8). Bu seropozitiflik oranları da göz önüne alındığında şüpheli durumlarda serolojik tanı açısından *Brucella canis* spesifik antijeni ile brusella tüp aglütinasyon testi yapılması önem arz etmektedir (9). Spesifik antijen ile Brusella tüp aglütinasyonun yanı sıra lam aglütinasyon, özgülüğün daha yüksek olduğu merkaptetanollü lam aglütinasyon, modifiye plak aglütinasyon, agar jel immünelektroforez, enzime bağlı immünassay (ELISA) gibi farklı serolojik yöntemlerle de spesifik tanı konabilmektedir. Ayrıca düşük bakteriyemi ile seyretmesi nedeniyle diğer türlere göre daha düşük üreme oranları görülmesine karşın kültür ile mikroorganizmanın üretilmesi ve moleküler yöntemlerin de kullanılması gerekebilmektedir (6,9).

#### Prozon olayı:

Antikor fazlalığına bağlı aglütinasyon blokajı olup, brusella tüp aglütinasyon titresi genellikle düşük kalmakta ( $\leq 1/80$ ) veya negatif saptanmaktadır. Genellikle bu durum immünglobulin (Ig) G vafında antikor fazlalığında görülmektedir. Serum dilüe edildiğinde blokaj olayı çözülmektedir. Bu sebeple serum en az 1/1280 titreye kadar dilüe edilmelidir. Sulandırmada %0,9 NaCl yerine, %5'lik NaCl çözeltisi kullanılması da prozon olayını engelleyebilmektedir (10). Akut, subakut ve kronik olguların hepsinde prozon olayı görülebilmektedir (%1,5-6). Coombs'lu tüp aglütinasyon testi prozon olayının çözümünde yararlı değildir (11,12). Yüksek dilüsyonlu tüp aglütinasyon testi dışında; kültür, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), ELISA, roket immündefüzyon gibi alternatif serolojik testler problemi çözümede yardımcı olmaktadır (13,14).

#### Blokaj antikorlar/Aglütinasyon Blokajı:

Bazı antikorlar inkomplet/blokaj antikor özelliği gösterebildiğinden, yüksek konsantrasyonda olmadıklarında klasik aglütinasyon testlerinde aglütine olmazlar. Blokaj antikorlar daha çok kronik brusellozlu (bazen subakut) olguların %0,5-%6'sında rastlanan IgG (IgG1 ve IgG2) ve IgA yapısındaki antikorlardır. Bruselloz kliniği olan, tüp aglütinasyon testi negatif veya düşük titreli pozitif serumlar aglütinasyon blokajı açısından araştırılmalıdır. Coombs'lu tüp aglütinasyon testi, aglütinasyon blokajını çözmektedir. Kan serumu santrifüjde çevrilir. Üç defa tuzlu su ile yıkanıp standart tüp aglütinasyon testi prosedürleri uygulandıktan sonra her tüpe bir damla insan globülini anti serumu (Coombs serumu) damlatılır. Blokaj varsa, bu durum ortadan kalkar ve aglütinasyon görülür hale gelir. Ortama ilave edilen Coombs reaktifi, antikorlar arası köprüler kurarak seropozitifliğin ortaya çıkmasını sağlar. Coombs'lu tüp aglütinasyon testi dışında; *Brucella* immüncapture test, *Brucella* jel Coombs test, akım testi (flow assay), ELISA gibi serolojik testler ile kültür ve PCR alternatif çözüm yöntemleridir (10,13,15,16).

#### Agamaglobulinemi-immün yetmezlikler:

Özellikle humoral immüniteyi etkileyen immünyetmezlik durumlarında immünglobülin üretilmemesi veya yeterince üretilmemesi söz konusu olduğundan, brusellozda aglütinasyon testlerinde antikor tespiti mümkün olamamaktadır (10). Bu durumda tanı kültür ve moleküler yöntemlerle konmaya çalışılmalıdır.

#### Hastalığın erken dönemi:

Hastalık semptomlarının başlamasından genellikle 1 hafta sonra brusella spesifik antikorlar ölçülebilir duruma gelmektedir. İlk yükselen IgM olup 3 ayda en yüksek seviyesine ulaşır. Kronik dönemde gittikçe azalma eğilimi vardır. Akut brusellozda IgM'den sonra IgG1, IgG2 ve IgG3, sonra IgA ve IgE artmaktadır. IgG antikorları hastalığın başlangıcından yaklaşık 3 hafta sonra pozitifleşir, 6-8 haftada oldukça yüksek seviyede bulunur. Kronik enfeksiyon süresince anlamlı seviyede kanda bulunur. Rose Bengal testi ile tespit edilen antikorların büyük kısmı IgG yapısındadır. Wright testinde kullanılan süspansiyon ise nötral değere yakın bir pH'ye sahip olduğundan IgM antikorlarını daha

fazla tespit etmekle birlikte, IgG ve IgA antikorlarını da yeterince saptamaktadır. Henüz yeterli antikor oluşmamış başlangıç dönemindeki olgularda, kültür ve PCR ile tanı konmaya çalışılmalı ve klinik olarak kuvvetle Bruselloz düşünülen olgularda birkaç gün sonra serolojik testler tekrarlanmalıdır (10,15,16).

## SONUÇ

Ülkemizde vaka sayılarında azalma olmakla birlikte bruselloz hala endemiktir. Çiftlik hayvanlarında yürütülen eradikasyon çalışmalarında henüz yeterli başarıya ulaşılmış değildir. Brusellozda halk sağlığı

natürünün azalması meslek hastalığı natürünün daha baskın hale gelmesine yol açmaktadır. Ayrıca çiftlik hayvanlarında yürütülen eradikasyon çalışmalarının B. canis enfeksiyonlarına etkisinin sınırlı olması beklendiğinden, bu etkenin toplam bruselloz yükü içindeki ağırlığının artması beklenebilir. Serolojide Brucella canis için spesifik test de çalışılması, prozon fenomenini önleyecek tedbirlerin alınması, Coombs'lu brusella tüp aglütinasyonu testi çalışılması, kültür ve moleküler testlerin daha çok kullanılması sıklıkla kullanılmakta olan brusella tüp aglütinasyon testlerine bağlı yalancı negatif sonuçları önemli ölçüde azaltacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Corbel MJ. Brucellosis in humans and animals. WHO. 2006;89.
2. Öncel S. Brucella Enfeksiyonları: Değerlendirme ve Yönetim. KOU Sag Bil Derg, 2016; 2 (3): 25-30.
3. Türkiye Zoonotik Hastalıklar Eylem Planı. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Yayın No: 1130, Ankara, 2019.
4. Başara Bora B, Soyutun Çağlar İ, Aygün A, Özdemir TA. Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2017. Sağlık Bilgi Sistemleri Genel Müdürlüğü, T.C. Sağlık Bakanlığı. Ankara, 2018.
5. Mantur BG, Amarnath SK, Shinde RS. Review of clinical and laboratory features of human brucellosis. Indian J Med Microbiol [Internet]. 2007 Jul [cited 2019 Jun 30];25(3):188-202. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17901634>.
6. Sarıgül F, Erdenliç-Gürbilek S, Sayan M, Tekin S, Güdücüoğlu H, Keskin O. Brucella canis coinfections in patients with brucellosis. Klimik Derg, 2018; 31 (3): 214-7.
7. Sayan M, Erdenliç S, Etiler N. Sağlıklı Kan Donörlerinde Brucella canis Seropozitifliğinin Laboratuvar Yapımı Lam Aglütinasyon Test Antijeni ile Araştırılması. Mikrobiyol Bul, 2011; 45 (4): 655-63.
8. Öncel T, Akan M, Sareyyüpoğlu B, Tel OY, Çiftçi A. Seroprevalence of Brucella canis infection of dogs in two provinces in Turkey. Turkish J Vet Anim Sci, 2005; 29 (3): 779-83.
9. Castillo Y, Tachibana M, Kimura Y, Kim S, Ichikawa Y, Endo Y, et al. Microplate Agglutination Test for Canine Brucellosis Using Recombinant Antigen-Coated Beads. Int Sch Res Not [Internet]. 2014 Oct 29 [cited 2019 Jul 1]; 2014: 1-4. Available from: <https://www.hindawi.com/archive/2014/348529/>.
10. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji. İzmir: Barış Yayınları; 1996; 181-94.
11. Buzgan T, Karsen H, Karahocagil MK, Akdeniz H, Sünnetçioğlu M. Standart tüp aglütinasyon testinde yüksek titrede negatiflik saptanan bir bruselloz olgusu. Mikrobiyol Bul, 2007; 41: 151-4.
12. Badur S. Brusellozda serolojik tanı ve seroepidemioloji. Klimik Derg, 1990; 3(1): 17-20.
13. Çeken S. Akut bruselloz tanısında polimeraz zincir reaksiyonu yönteminin kullanımı. Turk Hij ve Den Biyol Derg, 2015; 72 (2): 91-8.
14. Mehrabani D, Gholami Z, Kohanteb J, Sepehrimanesh M, Hosseini SMH. Rocket and Two Dimensional Immunoelectrophoresis in Diagnosis of Caprine Brucellosis. Iran J Public Health [Internet]. 2015 Aug [cited 2019 Oct 8]; 44 (8): 1114-20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26587475>.
15. Aliskan H. The value of culture and serological methods in the diagnosis of human brucellosis. Mikrobiyol Bul, 2008; 42: 185-95.
16. Ivrem A, Yucel F, Aksaray S, Bor E. Comparison of a new and rapid method, Brucella Coombs gel test with the other methods in the serological diagnosis of brucellosis. Mikrobiyol Bul, 2015; 49: 181-7.

## Onkolojik ilaç geliştirilmesinde yeni nesil dizileme teknolojisine dayalı farmasötik uygulamalar

### Pharmaceutical applications based on next generation sequencing technology in oncologic drug development

Sevcan YANGIN<sup>1</sup>, Ümmügülüm TANMAN<sup>1</sup>, Demet CANSARAN-DUMAN<sup>1</sup>

#### ÖZET

Kanser hastalığının tedavisine etkin çözüm bulmak için uluslararası işbirlikli birçok araştırma yapılmaktadır ve bu devam eden çalışmalardan birçok umut veren sonuçlar elde edilmiştir. Kanser hastalığının tedavisine henüz etkin bir çözüm bulunamamıştır ancak araştırmacıların yeni yöntemler geliştirme çabası devam etmektedir ve elde edilen araştırma sonuçlarına ait bulguları içeren çalışmalar yayımlanmaya devam etmektedir. Bu kapsamda kanser hastalığının tedavisi üzerine odaklanan çalışmalarda, ileri teknolojilerin kullanımı sonrası elde edilen bulgular kişiselleştirilmiş, tıp alanında ve klinik uygulamalarda kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde genom dizilemeleri ile genoma dair bilgilerin elde edilmesini sağlayan yeni nesil dizileme teknolojileri, kanser araştırmalarında kullanılan en gelişmiş teknolojilerden biridir. Yeni nesil dizileme teknolojisi hem genleri inceler hem de bazı mutasyonların tespit edilmesini sağlar. Yeni nesil dizileme teknolojisi bilinmeyen dizi varyasyonlarının kısa zamanda ve daha kolaylıkla belirlenmesini sağlar, böylece klinisyenlerin kanser oluşumu, ilerleme ve metastaz mekanizmalarını daha iyi anlamalarını mümkün kılar. Bu derlemede tümör belirteci belirlenmesi, farmakogenomik, hedefe yönelik tedavi, hassas tıp, aşı ile tedavi, biyofarmasötikler,

#### ABSTRACT

In order to find an effective solution to the treatment of cancer disease, many international collaborative researches have been carried out and many promising results have been obtained from these on going studies. An effective solution has not yet been found for cancer disease but studies on the development of new treatment methods and the findings of the research results continue to be published. In this context, in the studies focusing on the treatment of cancer, the findings obtained after the use of advanced technologies have been used in personalized medicine and clinical applications. Nowadays, next-generation sequencing technologies, which provide information on genomes with genome sequencing, are one of the most advanced technologies used in cancer research. Next-generation sequencing technology examines both genes and identifies some mutations. This technique enables the identification of unknown sequence variations in a short time and more easily, thus enabling clinicians to better understand the mechanisms of cancer. In this review, we aimed to provide information about the availability of next generation sequencing technology in pharmaceutical applications including areas such as tumor marker

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Tandoğan, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Demet CANSARAN-DUMAN

Ankara University, Biotechnology Institute, Tandoğan 06100 Ankara - Türkiye

Tel : +90 533 344 47 44 E-posta / E-mail : dcansaran@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 10.01.2019

Kabul Tarihi / Accepted : 31.03.2019

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2019.33576

Yangın S, Tanman Ü, Cansaran-Duman D. Onkolojik ilaç geliştirilmesinde yeni nesil dizileme teknolojisine dayalı farmasötik uygulamalar  
Türk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(4): 473-486

polifarmakoloji, toksigonostik ve farmakoepidemioloji gibi alanları da içeren farmasötik uygulamalarda, yeni nesil dizileme teknolojisinin kullanılabilirliği hakkında bilgi verilmeye çalışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Farmasötik uygulamalar, kanser, yeni nesil dizileme teknolojisi

determination to pharmacogenomics, targeted therapy, precision medicine, vaccine treatment, biopharmaceutics, polypharmacology, toxgonostics and pharmacoepidemiology.

**Key Words:** Pharmaceutical applications, cancer, next generation sequencing

## GİRİŞ

Vücudun her bir hücresinde bulunan genler DNA'da bulunur ve DNA; Adenin, Guanin, Sitozin ve Timin (AGCT dizisi) olmak üzere dört adet nükleik asit içerir. Genel inancın aksine, tüm bireylerin bu dört adet nükleik asitten oluşan DNA dizileri % 99.9 benzerdir ve sadece % 0.1 benzersizdir (1). DNA, bazı spesifik proteinleri kullanarak hücre büyümesi, bölünmesi ve ölümü gibi farklı yollarla önemli hücre yolak süreçlerini kontrol eder. Bu nedenle, her bir genin, sürekli olarak proteinlerin düzgün bir şekilde yapılmasına izin veren, spesifik bir kodlama dizisine sahip olması oldukça önemlidir (1).

Genetik varyasyonlar ise sıklıkla oluşur, ancak tüm genetik varyasyonlar hastalığa neden olmaz. Genetik varyasyonlar basitçe DNA dizisindeki farklılıklardır ve DNA'daki her bir genetik seviyede; genlerde, kromozomlarda, proteinlerde ve fonksiyonlarında gözlemlenebilirler. Bu nedenle, bir DNA dizisindeki varyasyonlar tartışılırken, genel olarak bir popülasyonda % 1'den daha az bir seviyede mevcut olan mutasyonlara değinilmektedir (1).

Genel olarak, tüm varyasyon tiplerini iki tip genetik mutasyon olayı oluşturur;

- 1- Tek baz mutasyonları (tek nükleotid polimorfizmleri veya SNPs) veya
- 2- Bir veya daha fazla nükleotidin eklenmesi veya

silinmesi.

Bir bireyde SNP'ler, yapısal varyasyonlar, kopya sayısı varyasyonları (CNV'ler), somatik kopya sayısı anomalileri (CNA'lar), eklemeler, silinmeler, ifadesi farklılaşan genler, ifadesi farklılaşan izoformlar, translokasyonlar, ifade edilen varyasyonlar, öngörülen gen füzyonları gibi bir mutasyon varsa; bu mutasyonların varlığı transkripsiyonu etkileyecek ve protein yapısı ve işlevini değiştirecektir ve de böylece kanser gibi karmaşık hastalıklara yol açacaktır (1).

Birçok faktöre dayanarak oluşan tüm kanser türlerinin başlangıcı; hiç protein içermeyen veya değişmiş fonksiyonlarla veya anormal proteinler oluşturan mutant hücrelerle başlar. Bu da zamanla başlangıç, gelişme, ilerleme ve metastaz dönemlerini içeren karsinogenik süreci başlatır (2).

Başka bir deyişle, normal hücresel ölçekte, büyüme promotör'leri ve inhibitörleri arasında bir denge vardır, ancak kanserleşme sürecinde bu denge kaybolur ve sıralı hücresel farklılaşma süreçlerinin oluşumuna ve tümörleşme sürecinin fenotipik karakterizasyonuna yol açar. Hücre çoğalması arttıkça, hücresel farklılaşmalar hücrelerin ölümsüzleşmesine ve normal apoptoza karşı direncin artışına yol açar. İnsan vücudu normalde bu mutasyonların çoğunu düzeltme yeteneğine sahiptir, fakat kanserde mutasyonlar hayati genlerde oluşmaya başladığından

ve ana hücrel yolaklarda dönüşüme sebep olduğundan durum farklılaşır. Mutasyon oranında daha fazla artış olduğu zaman kanserleşme artar (1).

Bazı kanser türleri normal dokulardan veya özelleşmiş hücre tiplerinden ortaya çıkabilir (3). Mutant bir genden oluşan bilgi normal genden oluşan bilgiden farklıdır. Tüm bu sebeplerden dolayı, DNA dizilerini okumak ve mutasyonları tespit etmek, bu mutasyonları daha iyi anlamak ve elde edilen sonuçlara göre en iyi kişiselleştirmiş tedaviyi belirlemek için ileri teknolojiye dayalı tekniklerin kullanılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Kanser hastalığının karmaşık yapısından dolayı, günümüzde hastalarda kanser hücrelerini yok edebilecek nitelikte ilaç henüz bulunmamaktadır. Birçok kanser hastalığını tedavi etmek amaçlı uygulanan yöntemler kombinasyon halinde ve farklı döngülerde hastaya verilir ve çoğunluğu toksiktir, sınırlı bir terapötik indekse ve morbiditeye neden olur (4). İlk nesil kanser hastalığı tedavileri 1950'lerde başlamıştır bu tedaviler çoğunlukla sitotoksik ve kanser hastalarında çeşitli yan etkilere neden oldukları gözlemlenmiştir (4).

Kanser hastalığının tedavisinde, erken evrelerde kanserli dokunun saptanması ve teşhis edilmesi oldukça önemlidir. Kanser hastalığının erken tespiti, tedavi oranında önemli bir artışa yol açar. Ancak, kanser hastalığının birçoğu geç evrelerinde tespit edildiğinde, tedavi olanaklarının sınırlı olduğu ve düşük oranda sağkalım ile sonuçlandığı tespit edilmiştir (5).

Tedavide normal hücrelere zarar vermeden sadece kanser hücrelerini hedeflemeye yönelik yeni kanser tedavi yaklaşımları kullanmaya ihtiyaç vardır. Günümüzde kanser hastalığı ile mücadelede ve tedavi için kullanılan cerrahi, ışın ya da kemoterapi gibi genel tedavi yaklaşımları kanser hücrelerini tahrip eder veya tamamıyla yok eder. Bu tedavi seçeneklerinin kombinasyonu, bir kanser hastasının yaşam kalitesini iyileştirerek hayatta kalma oranlarını arttırır. Ancak tedavide rutin olarak kullanılmalarının avantajları

olduğu gibi birçok dezavantajı da bulunmaktadır.

Kanser hastalığının tedavisinde rutin tedavide kullanılan tıbbi yöntemlerin yanı sıra alternatif tedavi yöntemleri arayışları da hızla devam etmektedir. Özellikle son yıllarda araştırmacılar ilaç adayı molekülün normal hücreye zarar vermeden sadece kanser hücrelerine odaklanan ve kanserli hücre çoğalmasını durduran etkisi olanlar üzerine odaklanmıştır. Bu kapsamda sentetik kaynaklı ilaç adayı moleküllerin yanı sıra biyolojik kaynaklı birçok ilaç adayı molekülün etkinliğini belirlemeye yönelik çalışmalar her geçen gün artmaktadır (6,7,8). Son yıllarda gerçekleşen bu çalışmalarda yeni ilaç adayı molekülün moleküler karakterizasyonu veya rutinde kullanılan ilaç kombinasyonlarının etkinliğini yine moleküler boyut da belirlenebilmesi için yenilikçi ve etkin bir teknik olan Yeni Nesil Dizileme Teknolojisine (NGS) dayalı birçok çalışmalar hızla devam etmektedir.

#### Yeni Nesil Dizileme Teknolojisi (NGS)

Genomik teknolojiler alanındaki son gelişmelerden biri, yüksek verimli dizileme platformlarının geliştirilmesidir. Bu teknolojiler kanser araştırmalarında güçlü bir araç haline gelmiştir (1).

NGS teknolojisi üç ana basamağa dayanmaktadır:

- DNA örneklerini sabitlemek için katı bir yüzey kullanmak,
- Döngüsel dizileme reaksiyonları için otomatik cihazlar kullanmak,
- Moleküler boyutta sonuçları tespit etmek için görüntüleme kullanmak (9).

Birinci nesil dizileme (Sanger dizileme), dizileme çalışmaları için altın standart olarak kabul edilir. Geçmişte genomik analiz için güçlü bir araç olarak kullanılmış olan bu teknik hala yüksek verimli dizi analizinde doğrulama amaçlı kullanılmaktadır. Yüksek verimli dizileme için Illumina (Solexa) dizileme, Roche 454 Dizileme, SOLiD ve Ion Torrent dahil çok sayıda dizileme teknolojisi örnek olarak verilebilir (10).

NGS teknolojisi; diğer teknolojiler ve ek çalışmalar ile birleştirilebildiği için etkin bir testdir. Örneğin Forsheve ve ark.'nın geliştirdiği bir yöntem olan TAM-seq, primer tasarımı ve NGS'yi birleştirerek TP53 mutasyonlarını belirleme yeteneğine sahiptir (11). NGS'nin Sanger dizilemesine göre birçok avantajı vardır. Numune hazırlama sırasında, dizi kütüphanelerinin hazırlanması için daha az miktarda DNA gereklidir. Örneğin, Sanger dizileme kullanarak *BRCA1* ve *BRCA2* genlerini dizilemek için 3 µg DNA gerekli olmasına rağmen kromatin immun çöktürme yöntemine dayanan NGS teknolojisi kullanılarak gerçekleştirilen dizileme çalışmaları için sadece 500 ng DNA miktarı yeterli olmuştur (12).

NGS, genomik dizileme hakkında bilgi sağlama nedeniyle, kanserleşme sürecinde genetik profili anlamada anahtar görevi görür. NGS, belirli bir klinik durumda beklenen mutasyonları tespit etme ve beklenmedik dizi varyasyonlarını belirlemeye yarayan bir tekniktir ve bu nedenle NGS teknolojisi tedavide ve diğer terapötik amaçlı tedavilerde önemli bir rol oynamaktadır (13).

NGS teknolojisi kullanılarak kanserli hastaya ait genom dizilemesi ile tümör profilleri, tümörün sınıflandırılması ve alt tiplerinin tanımlanması, kişinin genetik profiline uygun olan hedefe yönelik tedavi gerçekleştirilebilir. Ayrıca tüm ekzom dizileme, tüm genomun dizilemesi, transkriptom dizileme, epigenetik dizileme ve hedefe yönelik dizileme ile klinik uygulamalarda NGS teknolojisi ile belirlenebilmektedir (1).

## Farmasötik Uygulamalarda NGS Teknolojisi

### 1. NGS Teknolojisinin tümör belirteci belirleme amaçlı kullanımı

Kanser hastalığının yayılmasının ileri evrelerinde değil, doğru yöntemlerle erken tanı konular ve tedavi edilirse kanser vakalarının önemli bir kısmı önlenir (14). Kanser tedavisini bu denli zorlaştıran şey, kanserleşme sürecinin çoğunun sinsice yani hiçbir belirti vermeksizin ilerlemesidir.

Bu durum da, displazi, hiperplazi ve pleomorfizm gibi normal hücrelerde kanser hücrelerine dönüşümü sırasında meydana gelen tüm değişikliklerin belirti olmaksızın oluşması anlamına gelmektedir (15). Bu şartlar altında güvenilir bir teşhis testi gereklidir. Bu nedenle, şüphelenilen kanserli bölgenin bir parçasının cerrahi olarak çıkarılmasını gerektiren biyopsi uygulaması yapılır (15). Günümüzde, bilim insanlarının ve araştırmacıların yeni odak noktası, genom tabanlı kan testlerinin geliştirilmesidir. Bu hedefe dayalı gelişmiş testlerin başlıca faydalarından biri, tümör tarafından salgılanan materyaller olan tümör belirteçlerinin belirlenmesidir. Tüm genom dizilemesi kullanılarak kanser için kişiselleştirilmiş kan testlerinin geliştirilmesi, birçok çalışmanın odak noktası olmuştur (1).

Tümör belirteçlerinin gelişim öyküsü, 1960'larda enzimler, hormonlar ve serum proteinlerinin tedavi amaçlı tümör belirteçleri olarak kullanılması ile başlamıştır (16). 1970'lerin sonlarında, tümör belirteçleri ve işlevsel mekanizmalarının özellikleri hakkında daha fazla bilgi elde edilerek kanserle mücadelede yeni umut sağlanmıştır ve karsinoembriyonik antijen (CEA) veya karsinoembriyonik protein (17) içeren ilk tümör belirteci belirlenmiştir. Buna ilaveten, bu elde edilen bulgu ile, özellikle kanser hastasının tedavi sürecinde bu bilginin klinik pratiğe nasıl dönüştürüleceğine dair bilgiler sağlamıştır (1).

Tümör belirteçleri, popülasyonda en sık meydana gelen mutasyonlar olan SNP'lerin saptanmasıyla keşfedilebilir. Örneğin, ATG CAA'dan ACG CAA'ya, T nükleotidinden C nükleotidine doğru eğer tek bir yer değiştirme gerçekleşirse, tüm nükleotit dizisi hastalığı taşıyacaktır, çünkü dizideki değişim veya mutasyon oluştuğunda anormal bir protein üretecektir. Bu nedenle, bu SNP bu hastalık için bir belirteç olacaktır. Bir sonraki adım, bireysel genetik profilleri kullanarak kişiye özgü tümör belirteçlerinin kullanımı ve keşfi için stratejilerin geliştirilmesidir. Günümüze kadar, NGS teknolojisi ile kişiselleştirilmiş

tümör belirteçleri, erken kanser tespiti, tarama, tanı, prognoz, hedefe yönelik tedavi, terapötik cevap, izleme ve tekrarlama dahil olmak üzere onkolojinin farklı alanlarında birçok başarılı sonuç elde edilmiştir (1) (Tablo 1).

Tablo 1. Farklı kanser türlerinde tümör belirteçlerinin kritik rolleri (1).

Kanser tipi	Tümör markörü	Klinik bulgular
Mesane kanseri	ICAM-1/VCAM-1	Tüm kanser hastalarında kontrollere göre daha yüksektir.
	sFas ligand	Daha yüksek sFasL seviyeleri Ta mesane karsinomunda erken nüksü öngörmektedir.
Beyin kanseri	bFGF	Tümör varlığını gösterir.
	VEGF	Tümör varlığını gösterir.
Rahim ağzı kanseri	IL-2R	Skuamöz hücreli karsinomlu hastaların %50'sinde daha yüksek seviyelerdedir.
	SCC	Skuamöz hücreli karsinomlu hastaların %67.5'inde daha yüksek seviyelerdedir.
Kolon kanseri	Angiogenin	Yüksek seviyesi kanser ilerlemesi ile ilişkilidir.
	E-selectin	Kolon ve meme kanseri hastalarında artmıştır.
Endometriyal kanser	P53	Ameliyat öncesi jinekolojik kanserler için yardımcı testdir.
	IL-2R	Endometriyal hastaların % 51.4'ünde daha yüksek seviyelerdedir.
Yemek borusu kanseri	IL-2R	Yemek borusu kanseri hastalarda belirgin olarak artmıştır.
	P53 AB	Yemek borusu kanseri hastalarının % 43'ünde saptanmıştır.
Mide kanseri	c-erbB-2	Aşırı ifade de HER-2 / neu dokusu ile ilişkilidir.
	COX-2	Aşırı ifade seviyesi, yüksek seviyelerde prostaglandin E2 biyosentezi ve biyogenez ile ilişkilidir.
Meme kanseri	TGF-β	Primer meme tümörlerinde yüksek oranda ifade edilir.
	ICAM-1	Meme kanserli hastalarda sICAM-1'in % 96'sındaki yüksek seviyelerdedir.
Lösemi	TNF-α	Hastalık varlığının göstergesidir.
	IL-2R	Sadece relaps hastalarında, interferon tedavisine yanıt tahmini olarak belirlenir.
Akciğer kanseri	SVCAM-1 ve diğer CAMs	SCLC'de anormal seviyeleri tespit etmektedir.
	TNF-α,TGF-β	Pozitif akciğer kanserleri için uygun prognoz göstermektedir.
Pankreas kanseri	CgA	Endokrin pankreas tümörü, <b>çoklu</b> endokrin neoplazi 1 sendromunda artmış %99 karsinoid tümörde yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir.
	P53 mutant protein	Hastaların % 50'sinde tespit edilmiştir.

## 2. Farmakogenomik (PG)

Farmakogenomik (PG) farmakoloji ve genomik biliminin birleşimi ile oluşan bilim alanıdır. Bu alan, kişinin farklı genomik dizisi nedeniyle ilaç kullanımının insandan insana nasıl farklı tepki verdiği (18) ve kişiselleştirilmiş tıpta genotip-fenotip bilgisinin nasıl kullanılabileceğine odaklanmaktadır.

Farmakogenomik'in başlıca avantajları şunlardır:

1. Tedavi edici etkisinin en üst düzeye çıkarılmış ilaçların geliştirilmesi.

2. Vücut ağırlığı ve yaşı gibi geleneksel ölçümlerin kullanması yerine kişinin genetik profilini temel alan daha kesin dozaj yöntemleri tasarlama becerisi (18).

3. Farklı ilaçlar için yanıt veren/yanıt vermeyenleri tanımlama ve bu ilaç için risk faktörlerini belirleme yetisi.

Farmakogenomik'e dayalı çalışmaların sağladığı avantajları gerçek hayatta uygulamak için, çalışmalarda biri hastalıklı olan grup ve diğeri hastalık içermeyen kontrol grubu olmak üzere iki grup arasındaki DNA dizilerinin karşılaştırılmasıyla gerçekleştirilmelidir. Sonuçlar değerlendirildiğinde bir grupta SNP varlığını diğerlerine göre daha sık rastlanıyorsa, sonuçlar muhtemelen hastalık ile ilişkilendirilir (1).

Farklı ilaçların farklı popülasyonlarda değişik etkisi vardır. Gerçekleştirilen klinik çalışmaların sonucunda farklı hastaların aynı semptomlara, aynı bulgulara ve aynı hastalığa sahip olabileceğini ve aynı ilacı aynı dozda alsalar da, farklı etkiler ve reaksiyonlar sergilediklerini gösterir. Farklı kişiler aynı ilaca farklı şekilde tepki verirler; bu yüzden bu oluşan kişisel varyasyonlar nedeniyle ilaca karşı oluşan farklı yanıt verme, yanıt vermeme veya toksik yanıt verme olarak sınıflandırılırlar (1). Hastaların büyük çoğunluğu otoriteler tarafından onaylanmış ilaçları kullanmaktadırlar, ancak ilaçların bir kısmı klinik çalışmalarda başarısız olmaktadır ve daha da önemlisi, onaylanmış birçok ilaç ciddi yan etkileri

nedeniyle piyasadan geri çekilmiştir. Bu bireysel varyasyonların bazı olası nedenleri etnik köken, yaş, çevre, cinsiyet ve genetik çeşitlilik olabilir. İlaç uygulamaları alanında, belirli ilaçların metabolize edilmesinden ve ilaçların vücut içinde taşınmasından veya hedeflenmesinden sorumlu olan önemli genlerde bulunan genetik varyasyonlar, bir ilacın aktivitesini etkileyebilmektedir (1). Örneğin, hız sınırlayıcı bir metabolize edici enzim olan Dihidroirimidin Dehidrogenaz (DPYD) kullanımında, DPYD\*2A'da bir mutasyon oluştuğunda, 5-FU toksisitesine yol açarak kısmi DPYD eksikliğine neden olacaktır (19). Bu nedenle, hastanın durumuna bağlı olarak ilacın değiştirilmesi veya dozunun değiştirilmesi gibi başka alternatifler de düşünülmelidir. FDA uyarı bölümünde bu bilgiyi ilaç etiketi üzerinde belirtir. Theraguide 5-FU kan testi, kişiselleştirilmiş tedaviye izin vermek ve hastanın 5-FU ile ilişkili kemoterapiye olumsuz bir tepki verme riskini en aza indirmek için kullanılmaya başlanmıştır (19).

İlaç alanında farmakogenomik uygulamaları, hedefin tanımlanması ve ortaya çıkarılması ile başlar. Ardından bir bileşiğin optimizasyonu klinik çalışmaları ile devam eder ve son olarak bir ürünün piyasaya sürümü yapılır. Halen, kişiselleştirilmiş tıpta büyük katkılarından dolayı NGS teknolojisi her bireyin genetik profiline dayanan yeni terapötik stratejilerin tasarlanmasında kritik bir rol oynamaktadır (1).

Kanser hastalığının genetiğe bağlı olarak değişken bir oluşum olması nedeniyle, hastalığın tedavisinde kişiselleştirilmiş tedavi yöntemlerinin kullanması daha uygun olacaktır. Yeni terapötik stratejiler tasarlama kavramını daha iyi anlamak için, NGS teknolojisi kullanılarak DNA dizilerindeki mutasyonlar belirlenecektir, böylece bu mutasyonları spesifik hedefleyen ilaçların dizaynı yapılabilecektir. Bu ilaçlar da gen hedefli nükleik asitlere dayanarak işlev görebilecektir.

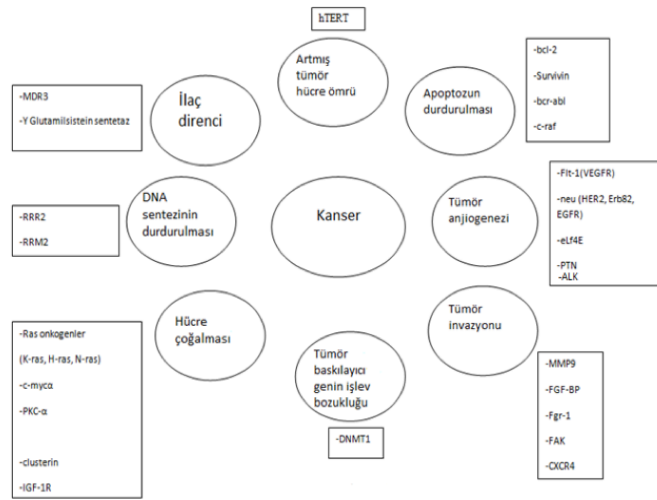
Kanser hastalığı oluşum nedenleri olarak apoptozun durdurulması, kontrolsüz hücre çoğalması, tümör anjiogenezi, tümör invazyonu, tümör baskılayıcı



genin işlev bozukluğu, artmış tümör hücre ömrü, DNA sentezinin durdurulması ve hastanın tedavi süreci boyunca ilaca direnci gösterilebilir. Tüm bu durumlar kanserojenik etkiye nedendir, bu kanserojenik etkilerin başlıca nedeni de mutasyonların oluşmasıdır. Bu nedenle, mutant genlerin NGS teknolojisi ile tespit edilmesi tedavinin sonucunu etkileyecektir (1) (Şekil 1).

Örneğin hücre çoğalması ile ilgili bir hedef gen örneği Ras onkogen ailesidir (K-ras, H-ras, N-ras) (Şekil 1). Ras ailesi, hücreler içindeki sinyalleri tirozin kinaz reseptörlerinden hücre çekirdeğine iletmekte görevli

proteinlerdir ve çok çeşitli süreçlerde görev alırlar (20). Bu genlerde bir mutasyon oluştuğunda hücrenin defosforilasyon yeteneğinin kaybına neden olur, bu da hücre çoğalmasının artmasına ve kanser hücrelerinin çoğalmasına yol açar (1,21,22) Meme kanserinde, dizilenmiş gen sayısı (36 gen) ile mutasyonların sayısının (111 mutasyon) karşılaştırılması sonucunda elde edilen veriler mutasyonların tümünün belirlenmesi ve tanı ve tedavide en iyi araçları ve yöntemleri bulmak için verilen bilgileri kullanmanın mutlak bir ihtiyaç olduğunu göstermektedir (Tablo 2).



Şekil 1. Karsinogenez oluşumları ve hedef genler (1).

Tablo 2. Meme kanser türlerindeki mutasyonların yerlerine ve farklı antikanser ilaçların etkilerine bakarak mutasyonların etkisi (1).

Kanser Türü	Mutasyon	Tür / Yer Mutasyonu	Hedefli Terapötikler için Etkiler			
Meme Kanseri	AR İfadesi		Androjen reseptör modülatörleri ve antagonistleri		Östrojen reseptör agonistleri-antagonistleri	Aromataz İnhibitörleri
		Hassasiyeti artırır	Şu anda bilinmeyen		Şu anda bilinmeyen	
	ER İfadesi		Hassasiyeti artırır		Hassasiyeti artırır	Şu anda bilinmeyen
	HER2 [ERBB2] Amplifikasyonu		Trastuzumab	Ado-Trastuzumab Emtansine	Pertuzumab	Lapatinib
	Hassasiyeti artırır		Hassasiyeti artırır	Hassasiyeti artırır	Hassasiyeti artırır	

### 3. Hedefe Yönelik Kanser Tedavisi

Kanser araştırmalarında karsinogenez hedefli ilaçların geliştirilmesi, hedefe yönelik kanser tedavisi veya rasyonel ilaç tasarımı olarak adlandırılmaktadır. Bu hedefe yönelik geliştirilmiş ilaçların birincil amacı, normal hücelere herhangi bir zarar vermeksizin kansere neden olan spesifik moleküllere müdahale etmektir. Kişiye özel hedeflenen ilaçlar, hassas tıbbın temel taşı ve kanser oluşumunun önlenmesine yönelik tedavilerin ortaya çıkarılması ve geliştirilmesi için odak noktasıdır (23).

Rutin uygulanan kemoterapi, kanser veya normal hücre ayırımı olmaksızın tüm hızlı bölünen hücelere üzerinde etkili olduğu için seçici olmayan bir şekilde çalışır ancak hedefe yönelik kanser terapi yöntemleri, hedeflerine ulaşmak ve sadece hedeflerine tepki vermek üzere tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Bu nedenle, kanserle ilişkili spesifik moleküler hedefler üzerinde etkilidirler. Sitogenetikte, hedefe yönelik tedaviler sitostatiktir (tümör hücresi çoğalımını bloke ederler), oysa rutin kemoterapi ajanları sitotoksiktir (tümör hücelerini öldürürler) (23).

Genetik tıpta son gelişmeler ve insan genomunun dizilenmesi ile yeni yaklaşımlar bulmak her zaman mümkündür (24, 25, 26). Bu yeni yaklaşımlardan biri ise, kanser hücelerinde bulunan proteinlerin miktarının, normal hücelerde bulunan protein miktarı ile karşılaştırılmasına dayanır. Bazı kanser hücelerinde yüksek seviyelerde ifade olan insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 proteini (HER-2) farklı şekilde ifade edilen hedefin bir örneğidir. Trastuzumab (Herceptin) (23) dahil olmak üzere birçok hedefe yönelik tedavi HER-2'ye karşı yönlendirilmiştir. Buna ilaveten, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri dizisi, EGFR tirozin kinaz inhibitörü duyarlılık direncinin varlığını göstermiş olup, bu da terapötik amaçlar için rutin olarak EGFR dizisinin kullanılmasına yol açmıştır (27). Mir-34'de kansere karşı tedavi amaçlı yeni bir silah olarak kullanımını tartışan bir çalışma gerçekleştirilmiştir (28). Başka bir yaklaşım, kanser hücelerinin, kanser ilerlemesini

yönlendiren mutant (değiştirilmiş) proteinleri üretilmediğini belirlemektir. Örneğin, bir hücre büyümesi sinyal proteini olan BRAF'ın, birçok melanomda değiştirilmiş bir formda (BRAF V600E) mevcut olduğu bulunmuştur. Mevcut onaylanmış ilaç vemurafenib (Zelboraf)'dir, vemurafenib bu tip kanserli hastaları tedavi etmek için BRAF proteininin mutant formunu hedeflemektedir (23).

Sinyal transdüksiyon inhibitörleri olarak bilinen yeni bir antikanser grubu olan kinaz inhibitörleri, sinyal transdüksiyonunun hücreysel mekanizmalarını hedef alır ve bu mekanizmalarda rol oynayan veya bu mekanizmalara katılan moleküllerin aktivitesini bloke eder. Bu gruptaki ilk ajanlardan biri olan ve bir BCR-ABL kinaz inhibitörü olarak alışan İmatinib; bir multikinaz inhibitörü olan Dasatinib; bir mTOR inhibitörü olan Everolimus; ve bir EGFR tirozin kinaz inhibitörü olan Gefitinib (29) örnek olarak verilebilir (1).

Tümör hücelerinde ifade edilen proteinleri hedeflemek için tasarlanan monoklonal antikolar, kanser hücelesini bağışıklık sisteminde daha görünür kılar. Örneğin CD20'yi hedefleyen Rituximab, büyüme sinyallerini bloke eder; EGFR'yi hedefleyen Cetuximab, yeni kan damarlarının oluşmasını engeller; VEGFR'yi hedefleyen Bevacizumab, kanser hücelerine radyasyon salınımı yapar ve İtriyum 90 ile işaretlenen İbritumomabtiuxetan CD20'yi engeller (29) (1).

### 4. Hassas Tıp

Kişiselleştirilmiş tıp, genomik tıp, hedef spesifik tıp, genomun analizi ile bireysel biyolojik profilin karakterize edilmesi ve en iyi sağlık tedavisi sağlanmış hastalardan elde edilen medikal sonuçlar üzerine odaklanmayı hedef edinmiş çalışmalar bütünüdür. Hassas tıp genellikle hastalığa neden olan moleküler yolları kesin olarak hedefleyerek doğru hastaya doğru zamanda doğru ilacı sağlanması olarak tanımlanır. Hassas tıp, her bireyin çok faktörlü karakteristiği ile bağlantılıdır. Hassas tıbbın eşsiz bir özelliği, sadece

genomik tıbbı bağılı olmamasının yanı sıra ayrıca bir hastanın yaşam tarzını, genomik olmayan biyolojik bilgileri, çevresel parametreleri ve diğere ilişkili verileri de içermesidir (2).

Hassas tıpta kullanılan yöntemlerden biri olan NGS, onkoloji alanında her bireyin kapsamlı genomik profilinin sunulmasını olanak veren başarılı bir tekniktir. Bu teknik, kanser hastaları için birçok avantaj sağlar. Örneğin, hastaya hedefe yönelik tedavi, genom bazlı kan testleri, biyobelirteçler ve diğere klinik uygulamalar gibi hastanın kişisel özelliğine dayanan spesifik tümör verilerinin belirlenmesini mümkün kılar. Gerçekleştirilen bir çalışmada, biri melanoma ve diğere kolorektal kanserli olmak üzere iki hasta alınmıştır ve her ikisinin de tedavisinin başarısızlıkla sonuçlandığı gözlemlenmiştir. Kişilerin dizileme sonuçları belirlendikten ve genetik profillerini derinlemesine inceledikten sonra, melanom hastasının bir CDKN2C yapısal geninde yeniden düzenlemesi oluşan HRAS gen değişimine neden olduğu gösterilmiştir. Tümörün sahip olduğu dizi (STB), hasta için bir tedavi olarak PI3K ve MEK inhibitörleri kullanılmasını önermiştir. Kolorektal kanser hastasında dizileme sonuçları, gelecekte bir terapötik hedef olarak kullanılacak bir NRAS varyasyonu olan CDK8'i saptamıştır (30). Elde edilen sonuçlar gen ifadesi değişikliklerini, yapısal yeniden düzenlemeler, nokta mutasyonları ve kopya sayısı değişimleri gibi birçok mutasyon kategoriyi tespit etmiştir. Bulgular, klinik onkoloji, kanser genetiği, biyoinformatik, klinik patoloji, sosyal ve davranış bilimleri ve biyoetik alanlarında uzmanlar tarafından tartışılmıştır (31). Ek olarak, klinik uygulamada NGS kullanımının en başarılı uygulamalarından biri Washington Üniversitesi'nde gerçekleştirilmiştir ve akut yetişkin lenfoblastik lösemi (ALL) hastalığına odaklanan ekibin araştırmasında transkriptom dizileme ve tüm genom dizilemesi yapılarak umut veren sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, FLT3 geninin lösemi hücrelerinde oldukça aktif olduğunu göstermiştir (1). Gastrointestinal stomal tümörleri, renal hücre karsinomu ve pankreatik kanseri tedavi

etmek için antikanser ilaç Sunitinib geliştirilmesine katkı sağlamış ve FDA tarafından onaylanan bu ilacın, FLT3'ü inhibe ettiği belirlenmiştir. Sunitinib kullanımı sonrasında ise hastanın kanının normale döndüğü gözlenmiştir (32, 33).

## 5. Biyofarmasötikler

Antikanser ajanların en önde gelen sınıflarından biri, bir hedefe bağlanan ve konağın bağışıklık mekanizmalarını aktive eden ve kanser hücrelerinin ya tamamıyla lizis aracılığıyla ya da öldürücü hücreler yoluyla öldürülmesine yol açan monoklonal antikordur. Monoklonal antikordur, kanser hücresi üzerinde inaktif büyüme faktörü reseptörüne bağlanabilir, böylece hayatta kalma yollarını inhibe edebilir ve apoptozisi uyurabilir. Cetuximab, EGFR hedefli bir monoklonal antikordur, Erbitux iyi bilinen bir anti-EGFR antikordur, Rituximab, CD20'yi oluşturan kalsiyum kanalına bağlanarak B lenfositlerinin lizisine yol açar ve Trastuzumab HER2'ye bağlanmaktadır (1). Bu alanda NGS teknolojisi antikör kütüphanesinin üretilmesini mümkün kılar, çünkü NGS teknolojisi verileri antikör kütüphanesinde daha kesin bir analizi sağlayabilir (34). Ayrıca, NGS teknolojisi çok işlevli enzimlerle protein etkileşimlerini saptamak için kullanılabilir (35), böylece protein-protein etkileşimlerini ve antikör-antijen bağlanmasını çalışmak için yeni potansiyel yöntemler sağlar (34).

## 6. Polifarmakoloji

İlaç tasarım çalışmaları, bir ilacın tek bir hedef yerine, bir ilacın birçok hedefine dönüştürülmesi fikrini kapsar (36, 37). Polifarmakoloji'nin ilaç geliştirmede hala bazı sorunları mevcuttur. Bu teknik, spesifik bir hastalık yolağında birçok hedefi etkileyebilen veya birçok hastalık yolağına bağlı birden fazla hedefi etkileyen tek bir ilacı kullanabilmeyi içerir (38). Polifarmakoloji, mevcut ilaçların tanımlanamayan hedeflerini araştırmayı amaçlamaktadır (39, 40). NGS teknolojisinin önemi, spesifik hedefleme yaklaşımı kullanarak, ilacın etkinliğini arttırmak ve toksisitesini en aza indirmektir. Bunlara ilaveten, NGS, hedef

olarak kullanılabilir mutasyonları tespit edebilir ve polifarmakoloji birçok hedefi bulmayı amaçlar; bu nedenle de NGS ve polifarmakoloji birbirlerini tamamlarlar. NGS teknolojisi ligand bazlı ihtimaller, hedefe dayalı yaklaşımlar ve fenotip tabanlı ihtimaller dahil transkriptomik temelli yöntemler, proteomik tabanlı yaklaşımlar ve ilaç hedef tanımlaması için kullanılabilir (41).

### 7. Toksikogenetik

Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların birçoğu toksiktir. Örneğin nefrotoksisite ve ototoksisiteye neden olan cisplatin; genotoksisiteye, fetotoksisiteye ve teratojeniteye neden olan temozolomid; ve doza bağımlı olan ve hepatotoksisiteye neden olan 6-merkaptopurin ciddi yan etkilere sebebiyet verir. Oluşan bu yan etkilerin araştırılması kanser tıbbi odaklı uygulamalarda toksikogenetik alanına yol açmıştır. Genellikle sistemik bir çalışma olarak tanımlanan toksikogenetikler, kanser önleyicilerin neden ve ilişkili olduğu genetik toksisite belirleyicileri üzerine çalışmalara odaklanmıştır (42).

NGS teknolojisi ile kanser önleyicilerin toksisitesini belirleme, toksisite nedenlerini belirleme ve toksikogenetik varyantları tespit etmeye olanak vermiştir. Ayrıca NGS teknolojisi ile her hastadaki genetik profile ve spesifik bir ilaca cevap verebilen insan sayısına göre toksisite düzeyini tahmin edilebilir. Toksikogenetikler, plazma ilaç konsantrasyonu profili ile toksisite seviyesi arasındaki ilişkiyi bulmayı ve tedavi için seçilmiş ilaç için etkin doz ayarlamasını her hasta için kişiselleştirilmiş bir tedavi planı oluşturarak yapmayı amaçlamaktadır (42).

### 8. Aşı ile tedavi

NGS teknolojisi, bir aşının verimliliğini ve güvenilirliğini değerlendirmek için kullanılabilir (43). NGS teknolojisi ile gerçekleştirilen çalışmaların sonuçlarının kesin sonuç vermesi ve her bir bireyde dizi varyantlarını saptama yeteneği nedeniyle oldukça etkin kullanım olanağı sağlamaktadır. NGS teknolojisi,

kişilerin aşılama ile tedavi sonrası oluşabilen yan etkileri belirlemek ve anlamak için daha fazla çözüm sağlayabilmektedir (34).

### 9. Farmakoepidemioloji

Farmakoepidemioloji ilaç tedavisinin popülasyonlar ve klinik uygulamalarda etkilerini ve farklılaşmalarını belirlemek amaçlı iş görür (44). NGS teknolojisi ilaç keşfinin yolunu açması nedeniyle başarıyla uygulanmaktadır (44). Epigenetiklerin iki önemli mekanizması DNA metilasyonu ve histon modifikasyonun belirlenmesinde NGS teknolojisi kullanılmıştır (45, 46, 47).

İnsan Genom Projesinin Haziran 2000'de tamamlanması ve gelecek nesil omik teknolojilerinin gelişmesiyle birlikte, yeni bir tıp dönemi başlamıştır. Özellikle, NGS teknolojisinin kullanımı ile tümörlerin moleküler profillemesinin belirlenmesi ve hızlı olarak büyüyen bir alan olan hassas kanser ilacı (PCM) olarak adlandırılan kişiselleştirilmiş tedavilerin geliştirilmesinde etkili olmuştur (48). Ayrıca son yıllarda NGS teknolojisi ile yapılan birçok çalışma literatürde yer almaktadır. Neesveve ark. (2019)'da gerçekleştirdiği çalışmada, diğer tümörlerin mevcudiyetinde spesifik pankreas duktal adenokarsinomuna yönelik tedavi için kullanılabilir farklı moleküler alt tiplerin belirlenmesini amaçlayan tam genom dizileme çalışması ve transkripsiyonel profil analizi çalışması yapılmıştır (49). Elde edilen sonuçlarda KRAS, TP53, CDKN2A ve SMAD4 gibi bilinen mutasyonların yanı sıra, çekirdek sinyal yollarında ve hücresel işlemlerde birleşen, tekrarlayan mutasyona uğramış veya farklı transkripsiyona uğramış çok sayıda gen belirlenmiştir. Ayrıca, genom çapında transpozon taraması ve kantitatif karakter lokus (QTL) dizilemesi, diğer yöntemlerle ortaya çıkarılması zor olan kanserlerin belirlenmesi için güçlü ve yeni bir araç haline gelmiştir. Yine, bu çalışmalar PDA'nın farklı moleküler yapıya sahip çok sayıda alt gruptan oluşan oldukça heterojen ve genetik olarak çeşitli bir hastalık olduğunu göstermiştir. Buna ek olarak, 73 örnekten ekzom dizisi tanımlanmış, Mismatch-

repair (MMR) eksikliği olan örneklerde çok önemli bir fark olarak tümör başına 1782 somatik mutasyon keşfedilmiştir. ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), histotipine bakılmaksızın, kararsız veya metastatik mikrosatellit dengesizliği yüksek ve MMR eksikliği olan katı tümörlere sahip hastalar için ikinci basamak bir ajan olarak anti-PD-L1 ilaç pembrolizumab'a hızlandırılmış olarak onay vermiştir (49).

Galanina et al. (2018) eşleşmiş hedefe yönelik tedavinin birçok hematolojik malignitede de etkili olduğunu gösteren bir çalışma gerçekleştirmişlerdir (50). Örneğin, kronik miyelojenöz lösemi (CML), eşleşmiş hedefli terapi ile dönüştürülen bir hastalığın göstergesi olduğunu belirlemişlerdir. CML'nin belirleyici özelliği olan aberrant BCR-ABL1 kinazın enzimatik aktivitesini inhibe eden imatinib mesilat, normal yaşam süresine yakın bir şekilde genel hayatta kalma süresini uzatmış olduğu tespit edilmiştir (50). Tirozin kinaz inhibitörlerinin (TKI) CML'deki kesin etkinliğine rağmen, uygulamada değişiklik gösteren,

rasyonel olarak geliştirilen, hedeflenen ajanlar bu tür birçok lenfoid ve miyeloid kanserin tedavisinde yaygın olarak uygulanmamıştır. Hematolojik malignitelerin genomik düzeyde aydınlatılması, temel moleküler değişiklikleri açıklığa kavuşturmaya yardımcı olabileceği ve potansiyel olarak tedavi seçimini sağlayabileceğini belirlemiştir (50).

## SONUÇ

Yeni nesil dizilemenin ileri ilaç araştırmaların temel taşı olduğu yapılan çalışmalar sonucunda belirlenmiştir. NGS teknolojisi ile test sonuçlarının kısa zamanda ve doğruluk oranını artırılarak, yeni terapötik stratejilerin dizaynı kanser tedavisi sonucu oluşan profili daha iyiye taşımak, sonuçlarını iyileştirmek ve mümkün olduğunca daha çok hayat kurtarmak için kullanılabilirliği sağlamayı mümkün kılan bir teknoloji olarak, kanser tedavisinde önemli bir yer almaya başlamıştır.

## KAYNAKLAR

1. Nawab DH. The Pharmaceutical Applications of Next Generation Sequencing in Oncology Drug Designing and Development. *J Next Generat Seq Applic*, 2015; 2:1.
2. Servant N, Roméjon J, Gestraud P, La Rosa P, Lucotte G, et al. Bioinformatics for precision medicine in oncology: principles and application to the SHIVA clinical trial. *Front Genet*, 2014; 5: 152.
3. Weinberg RA. *The Biology of Cancer*. 2nd ed. New York: Garland Science, 2013.
4. Neidle S. *Cancer Drug Design and Discovery*. 2nd ed. London: Elsevier Inc, 2013.
5. Wu W, Choudhry H. *Next Generation Sequencing in Cancer Research*. 1nd ed. New York: Springer, 2013.
6. Yamamoto T, Kanaya N, Somlo G, Chen S. Synergistic anti-cancer activity of CDK4/6 inhibitor palbociclib and dual mTOR kinase inhibitor MLN0128 in pRb-expressing ER-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2019 Jan 3. doi: 10.1007/s10549-018-05104-9.
7. Roshanravan N, Asgharian P, Dariushnejad H, MesriAlamdari N, Mansoori B, Mohammadi A, et al. Eryngium Billardieri Induces Apoptosis via Bax Gene Expression in Pancreatic Cancer Cells. *Adv Pharm Bull*, 2018 Nov; 8 (4): 667-674.
8. Kilic N, Aras S, Cansaran-Duman D. Determination of Vulpinic Acid Effect on Apoptosis and mRNA Expression Levels in Breast Cancer Cell Lines. *Anticancer Agents Med Chem*, 2018 Sep 2. doi: 10.2174/1871520618666180903101803.
9. Ezpeleta NR, Hackenberg M, Aransay AM. *Bioinformatics for High Throughput Sequencing*. 1 ed. New York: Springer, 2012.
10. Tanman-Zıplar Ü, Duman DC, Türkteş M. Genomic and Transcriptomic Sequencing and Analysis Approaches. *MBSJHS*, 2018; 4(1): 34-42
11. Ozretia L, Heukamp LC, Odenthal M, Buettner R. The role of molecular diagnostics in cancer diagnosis and treatment. *Onkologie*, 2012; 35 (1): 8-12.
12. Guan YF, Li GR, Wang RJ, Yi YT, Yang L, et al. Application of next-generation sequencing in clinical oncology to advance personalized treatment of cancer. *Chin J Cancer*, 2012; 31: 463-70.
13. Cronin M, Ross JS. Comprehensive next-generation cancer genome sequencing in the era of targeted therapy and personalized oncology. *Biomark Med*, 2011; 5: 293-305.
14. <http://www.cancer.org/treatment/understandingyourdiagnosis/examsandtestdescriptions/tumormarkers/#>.
15. Gates RA, Regina MF. *Oncology Nursing Secrets*. 3rd ed. Elsevier Science, 2008.
16. Wu JT. *Circulating Tumor Markers of the New Millennium: Target Therapy, Early Detection, and Prognosis*, Clinical chemistry. 1st ed. Washington: Amer Assn for Clinical Chemistry, 2002.
17. Wu JT. Review of circulating tumor markers: from enzyme, carcinoembryonic protein to oncogene and suppressor gene. *Ann Clin Lab Sci*, 1999; 29: 106-111.
18. Nishant T, Bindu HK, Kumar SD, Kumar AR. Pharmacogenomics-Personalized Treatment of Cancer, Diabetes and Cardiovascular Diseases. *J Pharmacogenom Pharmacoproteomics*, 2012; 3: 107.
19. Lee A, Ezzeldin H, Fourie J, Diasio R. Dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency: impact of pharmacogenetics on 5-fluorouracil therapy. *Clin Adv Hematol Oncol*, 2004; 2: 527-32.
20. Barbacid M. Ras genes. *Annu Rev Biochem*, 1987; 56: 779-827.

21. Campbell SL, Khosravi-Far R, Rossman KL, Clark GJ, Der CJ. Increasing complexity of Ras signaling. *Oncogene*, 1998; 17: 1395-1413.
22. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA Jr, et al. Cancer genome landscapes. *Science*, 2013; 339: 1546-58.
23. <http://www.cancer.gov/cancertopics/treatment/types/targeted-therapies/targeted-therapies-fact-sheet>.
24. Patel MN, Halling-Brown MD, Tym JE, Workman P, Al-Lazikani B. Objective assessment of cancer genes for drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*, 2013; 12: 35-50.
25. Hopkins AL, Groom CR. The druggable genome. *Nat Rev Drug Discov*, 2002; 1: 727-30.
26. Overington JP, Al-Lazikani B, Hopkins AL. How many drug targets are there? *Nat Rev Drug Discov*, 2006; 5: 993-96.
27. McLeod HL. Cancer pharmacogenomics: early promise, but concerted effort needed. *Science*, 2013; 339: 1563-6.
28. Misso G, Di Martino MT, De Rosa G, Farooqi AA, Lombardi A, et al. Mir34: a new weapon against cancer? *Mol Ther Nucleic Acids*, 2014; 3: 194.
29. Cohen V. *Basic Concepts in Pharmacology: What You Need to Know for Each Drug Class*, 4th ed. *Ann Pharmacother*, 2012.
30. Roychowdhury S, Iyer MK, Robinson DR, Lonigro RJ, Wu YM, et al. Personalized oncology through integrative high-throughput sequencing: a pilot study. *Sci Transl Med*, 2011; 3: 111-121.
31. Corless CL. *Medicine. Personalized cancer diagnostics*. *Science*, 2011; 334: 1217-1218.
32. Berger MF, Hodis E, Heffernan TP, Deribe YL, Lawrence MS, et al. Melanoma genome sequencing reveals frequent PREX2 mutations. *Nature*, 2012; 485: 502-6.
33. Beltran H, Yelensky R, Frampton GM, Park K, Downing SR, et al. Targeted next-generation sequencing of advanced prostate cancer identifies potential therapeutic targets and disease heterogeneity. *Eur Urol*, 2013; 63: 920-6.
34. Woollard PM, Mehta NA, Vamathevan JJ, Van Horn S, Bonde BK, et al. The application of next-generation sequencing technologies to drug discovery and development. *Drug Discov Today*, 2011; 16: 512-9.
35. Di Niro R, Sulic AM, Mignone F, D'Angelo S, Bordoni R, et al. Rapid interactome profiling by massive sequencing. *Nucleic Acids Res*, 2010; 38: 110.
36. Simon Z, Peragovics A, Vigh-Smeller M, Csukly G, Tombor L, et al. Drug effect prediction by polypharmacology-based interaction profiling. *J Chem Inf Model*, 2012; 52: 134-45.
37. Brianso F, Carrascosa MC, Oprea TI, Mestres J. Cross-pharmacology analysis of G protein-coupled receptors. *Curr Top Med Chem*, 2011; 11: 1956-63.
38. Reddy AS, Zhang S. Polypharmacology: drug discovery for the future. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2013; 6: 41-7.
39. Oprea TI, Mestres J. Drug repurposing: far beyond new targets for old drugs. *AAPS J*, 2012; 14: 759-63.
40. Oprea TI, Nielsen SK, Ursu O, Yang JJ, Taboureau O, et al. Associating Drugs, Targets and Clinical Outcomes into an Integrated Network Affords a New Platform for Computer-Aided Drug Repurposing. *Mol Inform*, 2011; 30: 100-111.
41. Tang J, Aittokallio T. Network pharmacology strategies toward multitarget anticancer therapies: from computational models to experimental design principles. *Curr Pharm Des*, 2014; 20: 23-36.
42. Church D, Kerr R, Domingo E, Rosmarin D, Palles C, et al. 'Toxgnostics': an unmet need in cancer medicine. *Nat Rev Cancer*, 2014; 14: 440-5.

43. Victoria JG, Wang C, Jones MS, Jaing C, McLoughlin K, et al. Viral nucleic acids in live-attenuated vaccines: detection of minority variants and an adventitious virus. *J Virol*, 2010; 84: 6033-60.
44. Freedman AN, Sansbury LB, Figg WD, Potosky AL, Weiss Smith SR, et al. Cancer pharmacogenomics and pharmacoepidemiology: setting a research agenda to accelerate translation. *J Natl Cancer Inst*, 2010; 102: 1698-1705.
45. Grützmann R, Molnar B, Pilarsky C, Habermann JK, Schlag PM, et al. Sensitive detection of colorectal cancer in peripheral blood by septin 9 DNA methylation assay. *PLoS One*, 2008; 3: 3759.
46. Delmore JE, Issa GC, Lemieux ME, Rahl PB, Shi J, et al. BET bromodomain inhibition as a therapeutic strategy to target c-Myc. *Cell*, 2011; 146: 904-917.
47. Kaiser J. Epigenetic drugs take on cancer. *Science*, 2010; 330: 576-8.
48. Dammacco F, Silvestris F. Chapter 1 - From the Double Helix to Oncogenomics and Precision Cancer Medicine: An Evolving Story. *Oncogenomics*, 2019; 3-16.
49. Neesse A, C.A.B., Öhlund D, Lauth M, Buchholz M, Michl P, Tuveson DA, Gress TM. Stromal biology and therapy in pancreatic cancer: ready for clinical translation? *BMJ Journals*, 2019; 68 (1): 159-171.
50. Galanina N et al. Comprehensive Genomic Profiling Reveals Diverse but Actionable Molecular Portfolios across Hematologic Malignancies: Implications for Next Generation Clinical Trials. *Cancers (Basel)*, 2018; 11(1).



<b>A</b>		BOLAT E. ....	2/169	DOĞRUMAN-ALA F. ..	2/195-4/379
AFANDI A. ....	4/379	BOYRAZ YK. ....	2/149	DOĞAN G. ....	4/391
AFSAR-ÇAĞIR F. ....	2/169	BOZALAN M. ....	3/243	DOKUR M. ....	3/267
AGUŞ N. ....	4/391	BODAYI G. ....	1/23	DUMAN GG. ....	2/195
AĞAÇFİDAN A. ....	1/93	BULUT T. ....	2/169	DUMAN P. ....	4/441
AKBAL A. ....	2/183	BUZGAN T. ....	4/469	DURDURAN Y. ....	2/149
AKSOY N. ....	1/53	<b>C - Ç</b>		DURLU-ÖZKAYA F. ...	3/285
AKSOY-GÖKMEN A. ..	2/177-3/231	CANSARAN-DUMAN D.	4/473	DURMAZ B. ....	3/353
AKTAŞ-TAPISIZ. ....	1/23	CESUR B. ....	2/221	<b>E</b>	
ALBAYRAK C. ....	4/415	COŞGUN Y. ....	3/335	EKEN K. ....	1/37
ALPAY-ÖZBEK Ö. ....	2/131	COŞKUN Ö. ....	2/183	EMEK M. ....	1/53-2/131
ALTAY-KOÇAK A.	1/23	ÇALTEPE G. ....	4/415	ENGİN-ÜSTÜN Y. ....	1/67
ALTINDIŞ M. ....	4/405	ÇAMUR D. ....	3/255	ER H. ....	3/231
ALTINDIŞ S. ....	4/405	ÇARDAK M. ....	3/341	EREL-GÖKTEPE İ. ...	3/303
ALTINSOY Ö. ....	3/335	ÇEÇEN S. ....	4/461	ERGÜN H. ....	1/15
ARIKAN H. ....	4/461	ÇELİK H. ....	2/141	EROL-TINAZTEPE Ö.	3/341
ARSLAN S. ....	2/203	ÇELİK İ. ....	2/169	ERTEK M. ....	4/453
ASLAN D. ....	3/361	ÇETİN M. ....	3/285	EVCİ R. ....	2/149
AŞKAR Ş. ....	1/85	ÇETİN Ş. ....	2/169	<b>F</b>	
ATAKAN-ERKAL F. ....	1/53	ÇİÇEK C. ....	2/177	FİDAN İ. ....	1/23
ATASOYLU G. ....	2/131	ÇİLLİ FF. ....	4/395	<b>G</b>	
AVCIKÜÇÜK H. ....	1/23	ÇOLAK M. ....	1/23	GAZİ U. ....	
AY M. ....	3/341	<b>D</b>		GEZER C. ....	
AYDEMİR SŞ. ....	4/395	DAAR-EDE G. ....	2/125	GÖRGEL KAHRAMAN H.	
<b>B</b>		DEMİR Z. ....	1/59	GÖRKEM Ü. ....	
BABÜR C. ....	1/3	DEMİR LS. ....	2/149	GÜN R. ....	
BAĞCI U. ....	3/341	DEMİR DORA D. ....	2/221	GÜNDOĞAN Z. ....	
BARAN N. ....	3/231	DEMİRBAŞ F. ....	4/415	GÜNEY G. ....	
BARIŞ A. ....	2/163	DERİCİ MK. ....	1/15	GÜNGÖR S. ....	
BASLARLI S. ....	2/169	DEVEBOYNU ŞN. ....	1/85	GÜREL Z. ....	
BAYRAKTAR M. ....	1/31			GÜRESER AS. ....	
BAYRAM A. ....	4/391			GÜRSES G. ....	

GÜVENDİK G. ....	1/77	<b>M</b>	SERDAROĞLU A. ....	1/23
<b>H</b>		MERT D. ....	SERTÇELİK A. ....	4/469
HABİLOĞLU AD. ....	4/453	MİLLETLİ-SEZGİN F. .	SEZEN F. ....	1/3
HANÇERLİ-TÖRÜN S.	1/93	MÜDERRİS T. ....	SILAN F. ....	2/183
HARMAN R. ....	3/267	<b>N</b>	SOMERA. ....	1/93
HASIRCI N. ....	3/03	NALBANTOĞLU S. ...	SOYSAL G. ....	3/341
HOŞGÖR-LİMONCU M.	4/395	<b>Ö</b>	SÖYLEMEZOĞLU T. ....	3/243
<b>İ</b>		ÖKEER M. ....	SÜNTER AT. ....	3/275
İLTER H. ....	3/255	ÖKSÜZOĞLU A. ....	SÜZÜK-YILDIZ S. ....	1/99
İRKEÇ C. ....	1/23	ÖZ S. ....	ŞAHİN ÇE. ....	4/441
<b>K</b>		ÖZDEMİR M. ....	ŞAHİN TK. ....	1/75-2/149
KABA Ö. ....	1/93	ÖZDEMİR R. ....	ŞAMLIOĞLU P. ....	4/391
KALAYCI AG. ....	4/415	ÖZEL Ş. ....	ŞEN-TAŞ S. ....	4/391
KALFAOĞLU H. ....	2/177	ÖZELCİ P. ....	ŞENGÜL G. ....	2/169
KAN Ö. ....	2/163-4/423	ÖZGÜLER ZÖ. ....	ŞİMŞEK AÇ. ....	2/211
KARA M. ....	1/93	ÖZKAN Ö. ....	ŞİMŞEK Z. ....	1/31
KARAALİOĞLU O. ...	3/341	ÖZKAN S. ....	ŞİRİN H. ....	2/141
KARACA-DERİCİ Y. ...	4/391	ÖZMEN-TOĞAY S. ....	<b>T</b>	
KARAKURT N. ....	4/415	ÖZOĞLU E. ....	TABARA MF. ....	2/149
KARAMAN N. ....	4/453	ÖZTAŞ D. ....	TANMAN Ü. ....	4/473
KARAOĞLANOĞLU O.	2/141	ÖZTOPUZ Ö. ....	TAYLAN-ÖZKAN A. ...	2/195-4/431
KARASARTOVA D. ...	1/109-2/195	ÖZTÜRK İ. ....	TEKİNTAŞ Y. ....	4/395
KAYA S. ....	3/231	<b>P</b>	TEMEL F. ....	2/141-4/441
KAYA-HASSU Ö. ....	2/169	PEKKAYA S. ....	TERZİ Ö. ....	3/275
KIRKOÇOĞLU H. ....	1/41	<b>S - Ş</b>	TEZER H. ....	1/23
KIZILTAY A. ....	3/303	SABA-ÇOPUR Ş. ....	TOĞRAL G. ....	4/453
KOÇAK Ö. ....	2/163-4/423	SABAH-ÖZCAN S. ....	TOĞRUL C. ....	2/163
KORKUT S. ....	1/67	SARZHANOV F. ....	TOPAL S. ....	2/141
KORUKLUOĞLU H. ..	3/335	SAV H. ....	TOPBAŞ M. ....	3/255
KÖKSAL MO. ....	1/93	SAZ EU. ....	TUĞLU-ATAMAN Ş. ..	1/53
KÖROĞLU M. ....	4/405	SEKRETER Ö. ....	TÜRKER-KAYA S. ....	1/41
KÖSEOĞLU-YILDIRIM E.	1/93	SEPİN-ÖZEN N. ....	TÜRKSÖY VA. ....	3/243

## 76. CİLT YAZAR DİZİNİ / 76. ISSUE AUTHOR INDEX

U-Ü					
USLUCA S. ....	3/313	YALÇINKAYA M. ....	1/53	YILMAZ Ş. ....	2/141
UYAR M. ....	1/75-2/149	YAMAN FK. ....	2/203	YILMAZ-HANCI S. ....	4/391
UYUTAN Y. ....	4/405	YANGIN S. ....	4/473	YILMAZEL G. ....	4/431
UZUNBAYIR-AKEL N.	4/395	YAPAR D. ....	4/431	YURTSEVER SG. ....	3/231
ÜNAL B. ....	2/131	YENTÜR-DONİ N. ....	1/31	YÜCESAN BÇ. ....	1/3
ÜNAL K. ....	3/297	YILMAZ N. ....	4/391	YÜKSEL B. ....	3/243
ÜNAL-KARAGÖZOĞLU N.	1/67	YILDIRIM E. ....	2/163	Z	
ÜNLÜ E. ....	3/329	YILDIRIM EN. ....	1/75	ZEYREK FZ. ....	1/31
Y		YILMAZ FF. ....	4/395		
YAĞCI-ÇAĞLAYIK D.	4/461	YILMAZ N. ....	2/125		



TELİF HAKKI DEVRİ / COPYRIGHT RELEASE



HALK SAĞLIĞI GENEL MÜDÜRLÜĞÜ / GENERAL DIRECTORATE OF PUBLIC HEALTH  
Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi / Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

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

Makale Türü/Article Type:

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

Makale Başlığı/Article Entitled : .....

Sayın Editör,

Yayımlanması 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

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

HALK SAĞLIĞI GENEL MÜDÜRLÜĞÜ / GENERAL DIRECTORATE OF PUBLIC HEALTH

Sağlık Mah. Adnan Saygun Cad. No: 55 E Blok Park Girişi 06100 Sıhhiye-ANKARA-TURKEY

Tel/Phone : +90 312 565 55 80

Faks/Fax : +90 312 565 55 91

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

