



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 2 ■ 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

## 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 Demirtepe/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, Botsvana

Dwight D. BOWMAN, ABD

Isme HUMOLLI, Kosova

Isuf DEDUSHAJ, Kosova

Iva CHRISTOVA, Bulgaristan

Johan LINDH, İsveç

Kosta Y. MUMCUOĞLU, İsrail

Manfred WEIDMANN, İngiltere

Paul HEYMAN, Belçika

Pauline MWINZI, Kenya

Roberto Caneta VILLAFRANCE, Küba

Sıraç DİLBER, İsveç

Susana RODRIGUEZ-COUTO, İspanya

Takashi AKAMATSU, Japonya

Varalakshmi ELANGO, Hindistan

## ULUSAL BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / NATIONAL SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

A. Gülçin SAĞDIÇOĞLU-ÇELEP, Ankara

Abdülkadir HALKMAN, Ankara

Ahmet ÇARHAN, Ankara

Ahmet KART, Ankara

Akçahan GEPEĐREMEN, Bolu

Ali ALBAY, Ankara

Ali Kudret ADILOĞLU, Ankara

Ali Naci YILDIZ, Ankara

Alp ERGÖR, İzmir

Alper AKÇALI, Çanakkale

Aşkın YAŞAR, Ankara

Ateş KARA, Ankara

Aydan ÖZKÜTÜK, İzmir

Aykut ÖZKUL, Ankara

Ayşegül GÖZALAN, Ankara

Ayşegül TAYLAN ÖZKAN, Çorum

Banu ÇAKIR, Ankara

Bayram ŞAHİN, Ankara

Bekir ÇELEBİ, Ankara

Belgin ÜNAL, İzmir

Berrin ESEN, Ankara

Birce TABAN, Ankara

Bülent ALTEN, Ankara

Celal F. GÖKÇAY, Ankara

Cemal SAYDAM, Ankara

Çağatay GÜLER, Ankara

Delia Teresa SPONZA, İzmir

Demet CANSARAN DUMAN, Ankara

Dilek ASLAN, Ankara

Dilek YAĞCI ÇAĞLAYIK, İstanbul

Diler ASLAN, Denizli

Doğan YÜCEL, Ankara

Duygu ÖZEL DEMİRALP, Ankara

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.turkhijyen.org](http://www.turkhijyen.org) adresinden “Çevrimiçi Makale Gönder, Takip Et, Değerlendir Programı” aracılığıyla on line olarak yapılabilir.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 11. Araştırma yazıları;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Süreli yayın:** Yazar(lar)ın Soyadı Adının baş harf(ler)i (altı veya daha az yazar varsa hepsi yazılmalıdır; yazar sayısı yedi veya daha çoksa yalnız ilk altısını yazıp “et al.” veya “ve ark.” eklenmelidir). Makalenin başlığı, Derginin Index Medicus'a uygun kısaltılmış ismi, Yıl; Cilt (Sayı): İlk ve son sayfa 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 Parazitol Derg*, 2001; 25 (3): 234-5.

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

• Dergi eki için örnek: Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M. Functional splenia: 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. Kaçınca 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. Kaçınca 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 kütüm 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. Olgu sunularında metin yedi sayfayı aşmamalıdır. Türkçe ve İngilizce olarak başlık, özet ve anahtar kelimeler ayrıca giriş, olgu ve tartışma bölümleri bulunmalıdır. Olgu sunumu türü yazılar için kaynak sayısı en fazla 20 olmalıdır.

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

16. Bu kurallara uygun olmayan metinler kabul edilmez.

17. Yazarlar teslim ettikleri yazının bir kopyasını saklamalıdır.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi

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.turkhiyjen.org](http://www.turkhiyjen.org) through the Online "Manuscript Submission, Tracking, Evaluation Program".

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

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

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

- The title should be short and written in lower case.
- The short title should not exceed 40 characters.
- The study supported by a fund or scientific organisation must be mentioned in a footnote or in the acknowledgements.

d. The study presented in a conference/symposium must be mentioned with the type of presentation in footnotes or in the acknowledgements.

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

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

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

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

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

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

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

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

### 11. Research Articles;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

12. Research articles should have up to 40 references.

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

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

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

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

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

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

Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology

General Directorate of Public Health

Tel : +90 312 565 55 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. **Yozgat çevresinde yaşayan çocuklarda brusella antikor seropozitifliği**  
**Brucella antibody seropositivity in children living around Yozgat**  
 Seda SABAH-ÖZCAN, Ghaniya DAAR-EDE, Neziha YILMAZ  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.43660 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 125 - 130

2. **Manisa ili hepatit A seronegatifliği ve sosyal belirleyicilerle ilişkisi, 2014**  
**Hepatitis A seronegativity and its relationship with social determinants in Manisa province, 2014**  
 Hilal GÖRGEL-KAHRAMAN, Özgen ALPAY-ÖZBEK, Mestan EMEK, Gonca ATASOYLU, Özgür SEKRETER, Belgin ÜNAL  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.05826 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 131 - 140

3. **Outbreak of *Shigella sonnei* infection in Terme City, Turkey, September 2012**  
**Terme ilçesinde *Shigella sonnei* enfeksiyonu salgını, Türkiye, Eylül 2012**  
 Selmur TOPAL, Hüseyin ÇELİK, Şenol YILMAZ, Erdinç ÖZOĞLU, Okan KARAĞLANOĞLU, Fehminaz TEMEL, Hülya ŞİRİN  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.90277 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 141 - 148

4. **Determination of usage frequency of household type water purifiers and effects on drinking water quality in Meram**  
**Meram ilçesinde ev tipi su arıtma cihazlarının kullanım sıklığının belirlenmesi ve içme suyu kalitesine etkisi**  
 Yusuf Kenan BOYRAZ, Lütfi Saltuk DEMİR, Kübra EKEN, Muhammet Fatih TABARA, Reyhan EVÇİ, Yasemin DURDURAN, Mehmet UYAR, Tahir Kemal ŞAHİN  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.90197 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 149 - 156

5. **Normal values of biochemical parameters in serum of New Zealand White Rabbits**  
**Yeni Zelanda Beyaz Tavşanlarında serum biyokimyasal parametrelerinin normal değerleri**  
 Özcan ÖZKAN, Selçuk PEKKAYA  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.53254 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 157 - 162

6. **Kanser erken teşhis ve tarama eğitim merkezleri (KETEM)'ne başvuran kadınlarda human papillomavirüs (HPV) sıklığının değerlendirilmesi ve genotiplerin analizi**  
**Evaluation of the frequency of human papillomavirus (HPV) in women admitted to cancer early diagnosis and screening training centers (KETEM) and analysis of HPV genotypes**  
 Özgür KAN, Ümit GÖRKEM, Ahmet BARIŞ, Özgür KOÇAK, Cihan TOĞRUL, Engin YILDIRIM  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.47123 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 163 - 168

7. **Yoğun bakım ünitesinde gelişen sağlık bakımı ile ilişkili *Candida* enfeksiyonlarının değerlendirilmesi**  
**Evaluated of health-care associated *Candida* infections in an intensive care unit**  
 Şerife ÇETİN, Hafize SAV, İlhami ÇELİK, Elif BOLAT, Fahriye AFSAR-ÇAGIR, Tuğba BULUT, Gülden ŞENGÜL, Serpil BASLARLI, Özlem KAYA-HASSU  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.78785 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 169 - 176

8. **Gastroenterit semptomları olan olgularda adenovirüs sıklığının shell-vial hücre kültürü yöntemi ile saptanması**  
**Detection of adenovirus frequency in cases with gastroenteritis symptoms by shell-vial cell culture**  
 Ayşegül AKSOY-GÖKMEN, Candan ÇİÇEK, Hale KALFAOĞLU, Eylem Ulaş SAZ  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.08068 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 177 - 182


9. **Genetic polymorphism of BMP-6 gene (rs267196 and rs267192) in patients with ankylosing spondylitis**  
**Ankilozan spondilitli hastalarda BMP-6 (rs267196 ve rs267192) genetik polimorfizmi**  
 Özlem ÖZTOPUZ, Fatma SILAN, Özlem COŞKUN, Ayla AKBAL  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.91979 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 183 - 194

10. **Western blot assay of anti-Echinococcus granulosus antibody positive serum samples by indirect haemagglutination method**  
**İndirekt hemagglütinasyon yöntemiyle anti-Echinococcus granulosus antikorları pozitif saptanan serum örneklerinin western blot testi ile değerlendirilmesi**  
 Ayşe Semra GÜRESER, Gamze Gizem DUMAN, Fakhridin SARZHANOV, Djursun KARASARTOVA, Funda DOĞRUMAN-AL, Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.03779 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 195 - 202

11. **Effects of progesterone treatment in polycystic ovary syndrome on pulmonary functions**  
**Polikistik over sendromunda progesteron tedavisinin pulmoner fonksiyonlara etkisi**  
 Fikriye Karanfil YAMAN, Sertaç ARSLAN  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.46656 (Dili: "İngilizce" - Language: "English") 203 - 210

12. **Ankara İl Millî Eğitim Müdürlüğü'ne bağlı okullarda 2017-2018 eğitim öğretim yılında yapılan "Beyaz Bayrak İşbirliği Protokolü" uygulamalarının değerlendirilmesi**  
**Evaluation of the application of the "White Flag Cooperation Protocol" in the schools of National Education Directorate of Province of Ankara in 2017-2018 academic year**  
 Asiye Çiğdem ŞİMŞEK, Zuhul YILDIRIM, Seçil ÖZKAN  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.19327 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 211 - 220


## ■ Derleme / Review

13. **Biyolojik olmayan kompleks ilaçlar**  
**Non-biological complex drugs**  
 Büşra CESUR, Devrim DEMİR-DORA  
 Doi: 10.5505/TurkHijyen.2018.95770 (Dili: "Türkçe" - Language: "Turkish") 221 - 228




## Yozgat çevresinde yaşayan çocuklarda brusella antikor seropozitifliği

### Brucella antibody seropositivity in children living around Yozgat

Seda SABAH-ÖZCAN<sup>1</sup>, Ghaniya DAAR-EDE<sup>2</sup>, Nezih YILMAZ<sup>3</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Bruselloz, dünya ölçeğinde görülen zoonotik bir hastalıktır. Türkiye’de yüksek morbidite ve düşük mortalite ile ilişkili halk sağlığı problemleri arasında yer almaktadır. Gelişmiş ülkelerde oldukça nadir görülür. Yüksek morbiditeli olması ve ekonomik kayıplara yol açması nedeniyle ülkemizde ve gelişmekte olan ülkelerde halen önemli bir halk sağlığı sorunudur. Ülkemizde, olguların büyük çoğunluğunu hayvancılığın yoğun olarak yapıldığı Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde yaşayan bireyler oluşturur. Bruselloz patognomonik bulgularla seyreden bir hastalık olmadığından tanının doğrulanması için serolojik ve bakteriyolojik testler gereklidir. Dünyada, özellikle endemik bölgelerdeki bruselloz vakalarının %20-30’unu çocuklar oluşturmaktadır. Çocukluk çağı brusellozu daha ziyade pastörize olmayan süt ve süt ürünlerinin tüketiminden kaynaklanır. Yozgat ilinde çiğ süt ve süt ürünü kullanımı yaygındır. Çocukluk çağında brusella antikor seropozitifliği ile ilgili veriler çok sınırlıdır. Bu çalışmada, Yozgat ve çevresinde yaşayan çocuklarda brusella antikor seropozitifliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmaya 1-15 yaş grubunda sağlıklı 238

#### ABSTRACT

**Objective:** Brucellosis is a zoonotic disease in the world. It is associated with a high degree of morbidity and minimal mortality among the public health problem in Turkey. It emerges very rare in developed countries. Due to its high morbidity and economic loss, it still remains a major public health problem in our country and in the developing countries. In our country, the vast majority of the cases are individuals living in the regions of Eastern and Southeastern Anatolia where animal husbandry is intensively performed. Since brucellosis is not a disease with pathognomonic findings, serological and bacteriological tests are necessary to confirm the diagnosis. In the world, 20-30% of the cases of brucellosis, especially in endemic regions, are children. Childhood brucellosis is most often caused by the consumption of non-pasteurized milk and dairy products. Raw milk and milk products are common in Yozgat province. In childhood, the data about the seropositivity of brucella are very limited. In this study, it was aimed to investigate the seropositivity of brucella antibody in children living in and around Yozgat.

**Methods:** The study included 238

<sup>1</sup>Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Yozgat

<sup>2</sup>Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri AD, Yozgat

<sup>3</sup>Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Yozgat



İletişim / Corresponding Author : Seda SABAH-ÖZCAN

Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD. 66000 Yozgat - Türkiye  
Tel : +90 354 212 70 10 E-posta / E-mail : seda.sabah@bozok.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 13.02.2018  
Kabul Tarihi / Accepted : 05.07.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.43660

Sabah-Özcan S, Daar-Ede G, Yılmaz N. Yozgat çevresinde yaşayan çocuklarda brusella antikor seropozitifliği  
Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(2): 125-130

çocuk dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen çocukların ebeveynlerinden aydınlatılmış onam alındı. Çocukların hane halkı sayısı ve yaşadıkları yerler (kırsal veya kentsel bölge) sorgulandı. Serum örneklerinde ELISA (enzim bağlantılı immünosorbent assay) yöntemi kullanılarak *Brucella* antijenlerine karşı antikorların varlığı araştırıldı.

**Bulgular:** Çalışmaya alınan 238 çocuğun yaş ortalaması  $7,3 \pm 4,1$  olup çocukların %48'i kız %52'si erkek idi. Çalışmaya dahil edilen çocukların 71 (%30)'i kırsal, 167 (%70)'si kentsel bölgede yaşamaktaydı. Çalışma kapsamına alınan çocukların %1,6'sında *brucella* IgG antikorları pozitif olarak saptanırken olguların hiçbirinde *brucella* IgM antikorları saptanmadı.

**Sonuç:** Çalışmamızda; seropozitivitenin yüksek bulunması, çalışma popülasyonunun hastane başvuruları arasından oluşturulması, günümüzde pastörize olmayan süt ve süt ürünleri kullanılması ve ailelerin zaman zaman kırsal kesimden gelen süt ürünlerini kullanıyor olmasından kaynaklanabilir. Çocuklarda *brucelloz*, daha çok subakut veya asemptomatik olarak geçirildiğinden genellikle tedavisiz kalır. Tedavisiz kalan olgularda kronikleşme ve buna bağlı olarak ileri yaşlarda gelişebilecek sekeller nedeni ile çocuklarda *brucelloz* özellikle endemik bölgelerde araştırılması gereken bir halk sağlığı sorunudur.

**Anahtar Kelimeler:** *Brucella*, çocuk, seropozitivite, Yozgat

healthy children within the 1-15 age groups. Approved informed by parents before being included in the study. The number of households the children and the places they live in (rural and urban area) were questioned. Serum samples were analyzed for the presence of antibodies to *Brucella* antigens using a direct enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA).

**Results:** The average age of the 238 children studied was  $7.3 \pm 4.1$  years, of which 48% were female and 52% were male. 71 (30%) of the children included were rural and 167 (70%) were living in urban areas. No *brucella* IgM antibody was detected in any of the cases when *brucella* IgG antibody was detected in 1.6% of the children included in the study.

**Conclusion:** The high seropositivity in our study may be due to the fact that the study population is formed from hospital applications, the use of non-pasteurized milk and dairy products nowadays, and the fact that families sometimes use dairy products from rural areas. *Brucellosis* in children can not usually be treated because it is more subacute or asymptomatic. *Brucellosis* is a public health problem that needs to be investigated especially in endemic areas in children due to chronicity in the untreated cases and consequent sequelae that can develop of older ages.

**Key Words:** *Brucellosis*, child, seropositivity, Yozgat

## GİRİŞ

*Brucella* türleri; hareketsiz, spor oluşturmeyen, kapsüllü, Gram-negatif kokobasillerdir. Bu etiyolojik ajanın yedi türü bulunmakla birlikte genellikle dört türü insan sağlığını etkiler: *B. abortus*, *B. canis*, *B. suis* ve *B. melitensis* (1, 2). *Brucelloz*, etkeni taşıyan hayvanlardan insanlara doğrudan temas, bu hayvanların süt ve süt ürünlerinin pastörize edilmeden

tüketilmesi ve/veya enfekte damlacıkların hava yolu ile alınması ile bulaşabilen bir zoonotik hastalıktır (3). Bulaş sıklıkla deri ve mukoza bütünlüğünün bozulduğu durumlarda kesik ve çizikler aracılığı ile deri ve konjonktivadan; bulaşıcı aerosollerin inhalasyonu ya da pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimi ile gerçekleşir. Hastalık nadiren kan

transfüzyonu, doku nakli ve cinsel yolla da insandan insana bulaş olabilir (4, 5). Bruselloz patognomonik bulgularla seyreden bir hastalık olmadığından tanının doğrulanması için serolojik ve bakteriyolojik testler gereklidir (6).

Gelişmiş ülkelerde oldukça nadir görülmele birlikte, yüksek morbiditeli olması nedeniyle önemli ekonomik sonuçlar doğurduğundan ülkemizde ve gelişmekte olan ülkelerde halen önemli bir halk sağlığı sorunu olarak devam etmektedir (7, 8). Ülkemizde, olguların büyük çoğunluğunu hayvancılığın yoğun olarak yapıldığı Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde yaşayan yetişkin bireyler oluşturur (9). Türkiye’de değişik bölgelerde ve farklı meslek gruplarında yapılan çalışmalarda brusella seropozitiflik oranları düşük riskli gruplarda %3 iken; kasap, besici, mezbaha ve mandıra çalışanları gibi bruselloz açısından yüksek riskli olan meslek gruplarında %9-25 arasında değişmektedir (10-13). Dünyada, özellikle endemik bölgelerdeki akut bruselloz vakalarının %20-%30’unu çocukların oluşturduğu tahmin edilmektedir (1). Epidemiyolojik çalışmalar, hastalıkların coğrafi dağılımını anlamak ve gerekli koruyucu hekimlik uygulamalarını yönlendirmek açısından önemlidir. Türkiye’de özellikle hayvancılıkla uğraşan Güneydoğu Anadolu, Doğu Anadolu ve İç Anadolu bölgeleri bruselloz açısından riskli bölgelerdir. Çocukluk çağında bruselloz nadiren görülmele birlikte özellikle *B. melitensis*’in baskın olduğu bölgelerde, her yaşta kişiyi etkileyebileceği kabul edilmektedir. Enfeksiyonun seyri ve komplikasyon insidansı hastaların yaşına bakılmaksızın benzer görünmektedir. İnsan brusellozu genellikle akut ateşli bir hastalıktır. Çoğu vakaya *B. melitensis* neden olmaktadır. Komplikasyonlar herhangi bir organ sistemini etkileyebilir. Hastalık nüks, kronik lokalize enfeksiyon veya geç iyileşme şeklinde seyreder (4). Literatürde çocuk nüfusunda bruselloz seroprevalansı verileri oldukça sınırlıdır. Gıda kaynaklı bruselloz, gıda hijyenine önem veren sanayileşmiş ülkelerde büyük ölçüde meslek grubuyla ilişkili olup çoğunlukla 20-45 yaş arasındaki erkeklerde görülür. Böyle

ülkelerde, hastalığın etkeni genellikle *B. abortus* veya *B. suis*’dir. *B. melitensis*’in yaygın olduğu ülkelerde veya bölgelerde, koyun ve keçi sütünün pazarlanması ve dağıtılması özellikle hijyenik önlemlerin uygulanmasını ve kontrolünü zorlaştırmaktadır. Böyle ülkelerde tüm nüfus risk altında olup hastalık genellikle kadın ve çocuklarda görülür. Göçebe toplumlarda yetişkinler çoğunlukla erken yaşlarda enfeksiyona maruz kalırlar ve genellikle akut hastalık belirtileri görülmeyen bu kişilerde kronik brusella enfeksiyonuna bağlı sekeller ortaya çıkar. Akut vakaların büyük çoğunluğu çocuklarda görüldüğünden bruselloz bu gibi toplumlarda önemli bir çocuk sağlığı sorunudur (4).

Bu çalışmada, endemik bir bölge olan Yozgat ve çevresinde yaşayan çocuklarda brusellozun çocuklarda risk oluşturup oluşturmadığını saptamak için brusella IgG ve IgM antikor pozitifliğinin araştırılması amaçlandı.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Ekim 2013 ile Kasım 2014 tarihleri arasında Yozgat ve çevresinde en az bir yıldır yaşayan 1 ile 15 yaş arası 238 sağlıklı çocukta gerçekleştirildi. Çalışmaya dahil edilecek minimum çocuk sayısı, Yozgat İl Halk Sağlığı Müdürlüğü kayıtlarındaki 2012 yılına ait bruselloz tanı insidansına göre matematiksel modelleme yapılarak belirlendi. Bu verilere dayanarak %95 güven aralığı, %1 error ve  $\pm 10$  sapma ile minimum gerekli çocuk sayısının 206 olduğu saptandı. Çalışmaya; Bozok Üniversitesi Pediatri Polikliniğine ayaktan başvuran, kronik hastalığı olmayan ve kontrol amacı ile (biyokimyasal testler için) kan tetkiki yapılması planlanan çocuklar dahil edildi. Çalışmaya dahil edilmeden önce ebeveylere aydınlatılmış onam alındı. Çocukların hane halkı sayısı ve yaşadıkları yerler (kırsal veya kentsel bölge) sorgulandı. Çocuklardan 5 mL kan örneği alınarak 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilip serumları ayrıldı. Elde edilen serum örnekleri çalışma yapıncaya kadar -20 °C’de saklandı. Serum örneklerinde brusella IgG

ve IgM antikor varlığı SERION ELISA classic Brucella IgG/IgM ticari kitiyle ELISA yöntemi ile araştırıldı. Çalışma, Bozok Üniversitesi tarafından Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında (Proje No: 2014 TF/A132) desteklenmiş olup çalışma ile ilgili etik kurul onayı (Etik Kurul Onay No: 992013170) alınmıştır.

İstatiksel analiz, SPSS versiyon 18 programı (SPSS Inc., Chicago, IL, US) kullanılarak gerçekleştirildi. Tanımlayıcı verilerden sürekli değişkenler ortalama,  $\pm$  standart sapma ile gösterilirken kategorik veriler frekans olarak gösterildi. Değişkenlerin normal dağılıma sahip olup olmadıkları tek örneklem Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan 238 çocuğun yaş ortalaması  $7,3 \pm 4,1$  olup çocukların %48'i kız, %52'si erkek idi. Hastaların demografik verileri Tablo 1'de gösterilmiştir. Çalışmaya dahil edilen çocukların

71 (%30)'i kırsal, 167 (%70)'si kentsel bölgede yaşamaktaydı. Çalışmaya dahil olanların %1.6'sında brusella antikorlu IgG pozitifliği (seropozitivite) gözlenmiştir. Seropozitiflik oranının çok düşük olması nedeniyle seropozitiflik ile yaş, cinsiyet ve yerleşim yeri arasında korelasyon analizi yapılmadı.

## TARTIŞMA

Bruselloz özellikle endemik bölgelerde çok değişik klinik bulgular ile seyreden önemli bir halk sağlığı sorunudur. Hastalık, dünyada hemen hemen tüm bölgelerde görülebilmekle birlikte Akdeniz havzasında yer alan Portekiz, İspanya, Güney Fransa, İtalya, Yunanistan, Türkiye ve Kuzey Afrika ülkeleri ile Arap Yarımadası, Hindistan, Meksika, Orta ve Güney Amerika'da yüksek oranda endemiktir. Dünyada yıllık 500.000 yeni bruselloz olgusu olduğu ön görülmektedir (14). İngiltere, Kuzey Avrupa

Tablo 1. Olgulara ait demografik ve klinik sonuçlar

	n (%)
Olgu Sayısı	238
Yaş Ortalaması (yıl)	$7,3 \pm 4,1$
Yaş Grupları (yıl)	
1-5	98 (%41)
6-10	78 (%33)
11-15	62 (%26)
Cinsiyet (Erkek/Kız)	124/114 (%52/%48)
Yerleşim Yeri	
Kırsal	71 (%30)
Kent	167 (%70)
Ailedeki birey sayısı	$4,4 \pm 1,2$
Brusella seropozitivitesi	4 (%1,6)



ülkelerinin büyük çoğunluğu, Avustralya, Yeni Zelanda ve Kanada gibi gelişmiş ülkelerde bruselloz eradike edilmiştir (15-18). Ülkemizde ise en az bildirim Karadeniz Bölgesinden yapılırken, olgular daha çok hayvancılığın yaygın olarak yapıldığı Doğu Anadolu, Güneydoğu Anadolu ve İç Anadolu Bölgelerinden bildirilmektedir (19). Her yaş grubunda görülmele birlikte, 0-4 yaşta nadir olan bruselloza daha çok genç ve orta yaşlı erişkinlerde rastlanmaktadır (20). Çocuklarda bruselloz insidansı hakkında literatürde yeterli veriye ulaşmak güçtür.

Sürveyans verileri, yüksek riskli gruplar ve muayene için erişilebilir olan kan bağışi yapan veya hamile kadınlar gibi kişilerde klinik ve serolojik araştırmalar yoluyla aktif olarak toplanabilir. Spesifik klinik bulguların bulunmaması nedeniyle, bu tür çalışmalar genellikle serolojik olarak yapılır. Ancak en sık kullanılan tarama testi olan RBT (Rose Bengal Test) *Salmonella* O:30, *Escherichia coli* O:157, *Yersinia enterocolitica* O:9 ile çapraz reaksiyona neden olan organizmalara maruziyet sonucu yanlış pozitif reaksiyonlara neden olabileceğinden sonuçlar dikkatli yorumlanmalıdır. Bu nedenle RBT, standart tüp aglütinasyon (STA) gibi tarama testleri ELISA gibi daha spesifik testlerle doğrulanmalıdır (4).

Bu çalışmada, Yozgat ve çevresinde yaşayan sağlıklı çocuklarda ELISA yöntemi ile brusella IgG antikor pozitiflik (seropozitivite) oranı %1,6 olarak saptanmıştır. Bugüne değin Yozgat ilinde çocuklarda bruselloz seropozitifliğini gösteren yalnızca bir çalışma bulunmaktadır. Gül ve ark. (6), 1110 çocuk üzerinde yaptıkları çalışmada 6 olguda (%0,5) Rose-bengal testinde pozitif sonuç elde edilmiş hiçbir çocukta tüp aglütinasyon testi pozitif bulunmamıştır. Buzgan ve ark. (21), 1028 semptomatik aktif bruselloz olgularını irdeledikleri çalışmada ise olguların %3,5'inin 3 ila 12 yaş arasında olduğu rapor edilmiştir. Ankara ilinde 2009 yılında yapılan 90 pediatrik bruselloz olgusunu inceleyen retrospektif bir çalışmada, hastaların 52

(%57,8)'sinin kırsal, 38 (%42,2)'inin kentsel kesimde yaşadığı görülmüştür. Bu çalışmada 64 çocukta (%71,1) taze peynir tüketimi ve 41 (%45,6) çocuğun ebeveynlerinin çiftçi olması bruselloz nedeni olarak rapor edilmiştir (22). Benzer şekilde, yaşları 20 ay ve 16 yıl arasında değişen çocuklar üzerinde yapılan başka bir retrospektif çalışmada bruselloz tanısı konan olguların %13.5'inde pozitif aile öyküsü bildirilmiştir (23). Ancak bizim çalışmamızda, seropozitif olarak tanımlanmış dört çocuğun ailesine ait bruselloz öyküsü olup olmadığı bilinmemektedir.

Çalışmamızda, bruselloz pozitifliği düşük olduğu için seropozitivite ile yaş, cinsiyet, yerleşim yeri ve hane halkı büyüklüğü arasında korelasyon olup olmadığı saptanamadı. Bu durum çalışmanın kısıtlılığıdır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından standardizasyon konusunda henüz çok netleşmemiş olmasına rağmen RBT'ye göre daha özgül olduğu kabul edilen testlerden biri olan ELISA yönteminin kullanıldığı çalışmamızda asemptomatik çocuklarda seropozitiflik Gül ve ark. (6), çalışmalarının aksine daha yüksek (%1,6) olarak bulunmuştur. Çalışmamızda, bruselloz için risk faktörü olabilen nedenler araştırılmamakla birlikte, seropozitivitenin yüksek bulunmasının, çalışma popülasyonunun hastane başvuruları arasından oluşturulması, günümüzde pastörize olmayan süt ve süt ürünleri kullanımının artması ve ailelerin zaman zaman kırsal kesimden gelen süt ürünlerini kullanılmasıyla ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Çocuklarda bruselloz, daha çok subakut veya asemptomatik olarak geçirildiğinden genellikle tedavi edilemez. Tedavisiz kalan olgularda kronikleşme ve buna bağlı olarak ileri yaşlarda gelişebilecek sekeller nedeniyle çocuklarda brusellozun erken tanısı, başarılı tedavi ve sekellerin önlenmesi için önemlidir.

Bruselloz değişik klinik tablo ve nonspesifik bulgularla seyrettiğinden klinik tanısı zordur. Bu nedenle özellikle endemik bölgelerde ateşle seyreden

hematopoetik, iskelet sistemi ve nörolojik şikayetleri olan çocuklarda öncelikle bruselloz araştırılmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Uluğ M, Yaman Y, Yapıcı F, Can-Uluğ N. Clinical and laboratory features, complications and treatment outcome of brucellosis in childhood and review of the literature. *Türk J Pediatr*, 2011;53:413-24.
2. Hendricks MK, Perez EM, Burger PJ, Mouton PA. Brucellosis in childhood in the Western Cape. *S Afr Med J*, 1995; 85: 176-178.
3. Çelebi S, Hacımustafaoğlu M. Brusellozis. *Güncel Pediatri*, 2004; 2: 39-43.
4. Corbel MJ. Brucellosis in humans and animals. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. <http://www.who.int/csr/resources/publications/Brucellosis.pdf>, [Erişim: 05 Şubat 2018].
5. Sümer H, Sümer Z, Alim A, Nur N, Ozdemir L. Seroprevalence of Brucella in an elderly population in mid-Anatolia, Turkey. *J Health Popul Nutr*, 2003;21:158-61.
6. Gül S, Satılmış ÖK, Oztürk B, Gökçe Mİ, Kusu F. Seroprevalence of brucellosis among children in the Middle Anatolia Region of Turkey. *J Health Popul Nutr*, 2014;32(4):577-579.
7. Yalçındağ Ş, Altınkaya N. Çocukta enfeksiyon hastalıkları. İstanbul: Logos Yayıncılık, 1993, 78-80.
8. Aygün AD, Güvenç H, Şükür Ç. Çocukluk çağında brusellozis: 42 olgunun değerlendirilmesi. *MN Pediat Yönelişler* 1994; 1/3-4: 153-157.
9. Şimşek H. Brucellosis. *Aylık Epidemiyoloji Raporu*, 2004;3(2):89.
10. Altındiş M. Afyon Bölgesi besicilerinde, kasaplarda, süt ürünleri toplayıcısı ve imalathanelerinde çalışanlarda bruselloz seropozitifliği. *İnfek Derg*, 2001;15(1):11-5.
11. Büke ÇA, Çiçeklioğlu M, Erdem İ, Özacar T. Süt ürünleri işleyicilerinde bruselloz prevalansı ve brusellozu bilme durumu. *İnfek Derg*, 2000;14:321-5.
12. Duman Y, Tekerekoğlu MS, Batı NS, Otlu B. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Bruselloz Seroprevalansı: Rose Bengal, Wright, Coombs Aglutinasyon Test Sonuçları. *Medicine Science*, 2013;2(3):679-88.
13. Doğanay M, Alp Mese E. In: Bruselloz Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3rd ed. Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, editors. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2008. pp. 897-909.
14. Yüce A, Alp-Çavuş S. Türkiye’de bruselloz: Genel bakış. *Klimik*, 2006;19:87-97.
15. Young EJ. Brucella species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett’s Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005: 2669-72.
16. Black TF. Brucellosis. In: Cohen J, Powderly WG, eds. *Infectious Diseases*. 2nd ed. St. Louis: Mosby, 2004: 1665-7.
17. Corbel MJ. Brucellosis: an overview. *Emerg Infect Dis*, 1997; 3:213-21.
18. Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos EV. The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis*, 2006; 6: 91-9.
19. Irmak H. Brusellozun Kontrolü Amacıyla Sağlık Bakanlığınca Yapılan Çalışmalar. III. Türkiye Zoonotik Hastalıklar Sempozyumu, Sempozyum Kitabı. 2010:54-8.
20. Orak F. Çorum ilinde laboratuvar verilerine göre bruselloz seropozitifliği. *Genel Tıp Derg*, 2016;26(3):69-73.
21. Buzgan T, Karahocagil MK, Irmak H, Baran AI, Karsen H, Evirgen O, et al. Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brucellosis: a retrospective evaluation and review of the literature. *Int J Infect Dis*, 2010;14:e469-78.
22. Tanir G, Tufekci SB, Tuygun N. Presentation, complications, and treatment outcome of brucellosis in Turkish children. *Pediatr Int*, 2009;51:114-9.
23. Caksen H, Arslan S, Oner AF, Cesur Y, Ceylan A, Ataş B et al. Childhood brucellosis is still a severe problem in the eastern region of Turkey. *Trop Doct*, 2002;32:91-2.

## Manisa ili hepatit A seronegatifliği ve sosyal belirleyicilerle ilişkisi, 2014

### Hepatitis A seronegativity and its relationship with social determinants in Manisa province, 2014

Hilal GÖRGEL-KAHRAMAN<sup>1</sup>, Özgen ALPAY-ÖZBEK<sup>2</sup>, Mestan EMEK<sup>3</sup>, Gonca ATASOYLU<sup>4</sup>,  
Özgür SEKRETER<sup>4</sup>, Belgin ÜNAL<sup>5</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmada 2014 yılında Manisa ilinde iki yaş üstü nüfusta hepatit A seronegatifliğinin sosyal belirleyicilerle ilişkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Araştırmanın bağımlı değişkeni, hepatit A seronegatifliği; bağımsız değişkenleri cinsiyet, yaş grubu, öğrenim durumu, mesleki durum, yıllık kişi başı eşdeğer gelir, algılanan gelir durumu, hane yoğunluğu (odabaşına düşen kişi sayısı), yerleşim yeri ve çocukluk dönemi yerleşim yerinde oluşmaktadır. Serum örneklerinde anti-HAV pozitifliği elektrokemilüminesans metodu ile Cobas e 411 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) analizörü ve bu analizörle uyumlu anti-HAV kitini (Roche Cobas Elecsys) üreticinin önerileri doğrultusunda çalışılmış ve yorumlanmıştır. Bağımsız değişkenlerle bağımlı değişken arasındaki ilişki kategorik değişkenler için ki-kare testi ile incelenmiştir. Her bir değişkene ait kaba ve yaşa göre düzeltilmiş Odds ratio (OR) ve %95 güven aralıkları (GA) lojistik regresyon yöntemiyle hesaplanmıştır.

**Bulgular:** Araştırmada 1223 kişinin veri ve örneği değerlendirilmiştir. Hepatit A seronegatifliği %24,4

#### ABSTRACT

**Objective:** The aim of this cross-sectional study is to investigate the relationship between hepatitis A seronegativity and some social determinants above 2 years of age in Manisa province, in 2014.

**Methods:** The study was carried out using the data and obtained from the study titled 'Determining the Seroprevalence of Some Vaccine-Preventable Diseases in Manisa'. The dependent variable was hepatitis A seronegativity; gender, age group, educational level, occupational class, annual income per capita, perceived income status, household density (number of people per room) and childhood place of residence were the independent variables. Serum samples were analyzed for total anti-HAV positivity with electrochemiluminescence immunoassay method by a Roche-Cobas e 411 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) analyzer (Roche Cobas Elecsys) and compatible kits. The relationship between dependent and independent variables were examined by using chi-square test for categorical variables. The adjusted odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) for each variable were calculated by logistic regression method.

<sup>1</sup>Narlidere İlçe Sağlık Müdürlüğü, İzmir

<sup>2</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

<sup>3</sup>Antalya Halk Sağlığı Müdürlüğü, Antalya

<sup>4</sup>Manisa Halk Sağlığı Müdürlüğü, Manisa

<sup>5</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, İzmir



İletişim / Corresponding Author : Hilal GÖRGEL-KAHRAMAN

Huzur Mahallesi, Mithatpaşa Caddesi No: 463 35320 Narlıdere - İzmir - Türkiye  
Tel : +90 544 545 35 88 E-posta / E-mail : hilal.gorgel@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 22.06.2018  
Kabul Tarihi / Accepted : 09.08.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.05826

Görgel-Kahraman H, Alpay-Özbek Ö, Emek M, Atasoylu G, Sekreter Ö, Ünal B. Manisa ili hepatit A seronegatifliği ve sosyal belirleyicilerle ilişkisi, 2014. Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(2): 131-140

olarak saptanmıştır. Hepatit A seronegatifliğinin en yüksek olduğu yaş grupları 2-9, 10-19 ve 20-29 olup sırasıyla, %78,5, %65,8 ve %31,3 olarak bulunmuştur. 30 yaş ve üzeri gruplarda seronegatiflik %0,0-%5,5 olarak değişmektedir. Hepatit A seronegatifliğinin en düşük olduğu ilçe Köprübaşı (%8,30), en yüksek olduğu ilçe ise Kırkağaç'tır (%34,6). Araştırmada hepatit A seronegatifliğinin sosyal belirleyicilerle ilişkisine bakıldığında; yıllık kişi başı eşdeğer geliri ≤3265 TL olma (OR: 0,61, %95 GA: 0,42-0,90) ve hane yoğunluğuna göre kişi sayısı birden fazla olma (OR: 0,48, %95GA: 0,32-0,71) ile hepatit A seronegatifliği arasında ilişki olduğu saptanmıştır. Hepatit A seronegatifliği ile cinsiyet, çocukluk dönemi yerleşim yeri, yerleşim yeri, öğrenim durumu, mesleki durum, algılanan gelir düzeyi ve hanedeki tuvaletin konumu arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

**Sonuç:** Çocukluk döneminde seronegatiflik ve bulaştırıcılığın yüksek olması, ilerleyen yaşla birlikte morbidite ve mortalitenin artması nedenleriyle aşılanmalıdır. Sağlık hizmet gereksinimi belirlenirken hepatit A seronegatifliğinin yüksek olduğu bölgeler, düşük gelirliler ve kalabalık aileler öncelikle aşılanmalı ve sağlık eğitimi hizmeti verilmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** Hepatit A, seroepidemiolojik çalışmalar, sosyal belirleyiciler

**Results:** In this study, it was analyzed data obtained from 1223 person. It was detected hepatitis A seronegativity as 24.4%. The highest age groups of hepatitis A seronegativity were 2-9, 10-19 and 20-29, with the percents of 78.5%, 65.8% and 31.3% respectively. Seronegativity percentages range from 0.0% to 5.5% in groups over 30 years of age. While Köprübaşı district (8.30%) had the lowest hepatitis A seronegativity Kırkağaç (34.6%) had the highest. When it was evaluated the association between social determinants and hepatitis A seronegativity; it was found that having an equivalent of annual income per capita equal or lower than 3265 TL had a protective effect on hepatitis A seronegativity (OR: 0.61, 95% CI: 0.42-0.90). According to the density of the households, it was found that those who had more than one person had a protective effect on hepatitis A seronegativity (OR: 0.48, 95% CI: 0.32-0.71). There was no significant association between hepatitis A seronegativity and gender, place of childhood, place of residence, educational status, occupational status, perceived income level and toilet location of the dwelling ( $p> 0.05$ ).

**Conclusion:** Hepatitis A vaccination should be performed because of high contagiousness during childhood and increasing mortality and morbidity with aging. Districts with high hepatitis A seronegativity, families with low-income and households with high density must be prioritised for immunization and health education services.

**Key Words:** Hepatitis A, seroepidemiologic studies, social determinants of health

## GİRİŞ

Hepatit A, aşı ile veya geçirilen enfeksiyon sonrası bağışık yanıt oluşan viral bir hastalıktır. Dünya genelinde sporadik olgularla veya epidemilerle görülmektedir. Genellikle tamamen iyileşme görülür. Ancak, fulminant hepatite yol açarak mortaliteye de neden olabilir (1). Dünyada yüksek gelirlilerde (Batı Avrupa, Avustralya, Yeni Zelanda, Kanada, Amerika Birleşik Devletleri, Japonya, Kore Cumhuriyeti ve Singapur) Hepatit A virüs (HAV) endemisi düşük düzeydedir. Buna

karşın, düşük gelirlilerde (Sahra-altı Afrika ve Güney Asya'nın bazı bölgeleri) HAV endemi düzeyi yüksektir. Asya, Latin Amerika, Doğu Avrupa ve Orta Doğu'daki gibi orta gelirlilerde ise orta ve düşük endemik düzeydedir (2).

Yüksek düzey enfekte bölgelerde; sanitasyon ve hijyen koşulları zayıf olan gelişmekte olan ülkelerde çocukların %90'ı 10 yaşından önce bu enfeksiyonu geçirmiştir. Semptomatik hastalık hızı düşük ve

salgınlar nadirdir. Orta düzey enfekte alanlarda; geçici ekonomilere sahip, sanitasyon koşulları gelişmekteki ülkelerde, erken çocukluk döneminde enfeksiyondan kurtulanlar ve bağışık olmayan yetişkinler bulunmaktadır. Ekonominin gelişmesi ve sanitasyon koşullarının iyileşmesi seronegatif hastalığa duyarlı yetişkinlerin artmasına yol açabilir. Yüksek hastalık hızları ve geniş alanlara yayılan salgınlar ortaya çıkabilir. Düşük düzey enfekte alanlarda iyi sanitasyon ve hijyen koşullarının olduğu gelişmiş ülkelerde enfeksiyon hızı düşüktür. Hastalık yüksek risk grubu yetişkin ve adolesanlarda açığa çıkar. Endemi görülmesi olası değildir (3). Düşük sosyal sınıf, büyük ailede yaşam, kalabalık yaşam, kırsalda yaşam, eğitim seviyesinin düşük olması, yetersiz kanalizasyon sistemi HAV endemisi ve salgınlarıyla ilişkilidir (4).

Ülkemizde çocukluk dönemi aşı takvimine hepatit A aşısı 2012 yılında eklenmiştir. Aşı 18. ve 24. ayda olmak üzere (6 ay ara ile) iki doz halinde uygulanmaktadır. Aşılama programı ile birlikte, enfeksiyon veya aşılama sonucu hepatit A'ya karşı bağışıklık kazanmamış seronegatif erişkin sayısında artış olabilir. Hepatit A enfeksiyonu çocuklukta genellikle asemptomatik ya da hafif seyirli bir klinik tablo oluştururken, adolesan ve erişkin yaşta ağır klinik tablolara nadiren de mortaliteye neden olmaktadır. Bu nedenle, toplum içinde enfeksiyona duyarlı grupların ortaya çıkartılması alınacak önlemlerin belirlenmesinde yardımcı olacaktır. Bu araştırma aşılama programı başlamadan önceki dönemi yansıtmaktadır. Araştırmada, 2014 yılında Manisa ilinde iki yaş üstü nüfusta, hepatit A seronegatiflik oranının belirlenmesi ve sosyal belirleyicilerle ilişkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu araştırma, daha önceden yapılan "Manisa'da Aşıyla Önlenebilir Bazı Hastalıkların Seroprevalansının Belirlenmesi, 2013" çalışması kapsamında toplanan veriler ve örnekler üzerinden yapılmıştır (5, 6). Araştırmanın bütçesi, Dokuz Eylül Üniversitesi (DEÜ) Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) koordinasyon birimi tarafından karşılanmıştır. Araştırma

için Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 08.01.2015 tarih ve 2015/01-26 numaralı kararı ile etik kurul onayı alınmıştır.

Araştırmanın evrenini Ekim 2013'te Manisa ili Aile Hekimliği Bilgi Sistemi (AHBS)'ne kayıtlı iki yaş üstü tüm bireyler (N=1.317.917) oluşturmaktadır. Araştırma için örnek büyüklüğü, EpiInfo programı Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (Center for Disease Control and Prevention) ile beklenen en düşük seronegatiflik %2.0, mutlak hata payı %0,75 varsayılarak, %95 güven aralığı düzeyinde 1337 kişi olarak hesaplanmıştır. Bu sayıya veri toplamada yaşanacak aksaklıklar ya da örneğe çıkan kişilere ulaşamama olasılığı nedeniyle, %30 yedek eklenerek örnek büyüklüğü 1740 olarak belirlenmiştir. Araştırmada, 168 kişinin ikamet adresine ulaşamadığı, 312 kişi çalışmaya katılmayı ve kan örneği alınmasını reddettiği için, 37 kişi yetersiz numune, hemoliz ve lipoliz gibi nedenlerle dışlanmıştır. Bu araştırmada, 1223 kişiden alınan veriler değerlendirilmiştir (ulaşma hızı %70,2). Araştırmaya katılan ve katılmayan kişilerde yaş ortalamaları arasında fark bulunmamıştır (p=0.69). Cinsiyetlere göre bakıldığında ise araştırmaya katılanlarda katılmayanlara göre kadınların oranı daha yüksek bulunmuştur (p<0.001). Araştırmaya katılımın ilçelere göre dağılımına bakıldığında en az katılımın görece nüfusu büyük olan Şehzadeler (%64,2), Turgutlu (%66,8) ve Yunusemre'de (%67,2) olduğu saptanmıştır. Örnek, AHBS kayıtlarından iki yaş üstü nüfus içerisinde basit rasgele yöntemle seçilmiştir. Veriler ve örnekler 18.03.2014-22.06.2014 tarihleri arasında aile sağlığı merkezlerinde (ASM) toplanmıştır. İl merkezinde 30 ASM'ye kayıtlı 434 kişi, il merkezi dışında 15 ilçede 128 ASM'ye kayıtlı 1306 kişi olmak üzere toplam 158 aile sağlığı merkezinde 1740 kişi ASM'ye davet edilmiştir. Sosyodemografik değişkenlere ilişkin verilerin toplanması için oluşturulan anket, eğitilmiş anketörlerce yüz yüze görüşme ile uygulanmış, kan örnekleri (5 mL) ASM sağlık personeline alınmıştır. Kanlar aynı gün içinde laboratuvarda santrifüje edilerek serumları ayrılmış ve 5 mL'si 4-8°C'de Manisa'da bir merkeze taşınmış ve -20°C'de dondurulmuştur. Serumlar haftada bir kez soğuk zincirle DEÜ Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına nakledilmiş ve

analizler yapıncaya kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

Anti-HAV testleri Cobas e 411 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) elektrokemilüminesans immünolojik test analizörü ve bu analizörle uyumlu (Roche Cobas Elecsys) anti-HAV kiti ile üreticinin önerileri doğrultusunda çalışılmış ve yorumlanmıştır. Anti-HAV değerleri  $\geq 20$  IU/L olan örnekler pozitif,  $< 20$  IU/mL olanlar negatif kabul edilmiştir.

Araştırmanın bağımlı değişkeni, hepatit A seronegatifliğidir ve anti-HAV açısından negatif olma olarak tanımlanmıştır. Araştırmanın bağımsız değişkenleri, cinsiyet, yaş grubu, öğrenim durumu, mesleki durum, yıllık kişi başı gelir, algılanan gelir durumu, hane yoğunluğu (oda başına düşen kişi sayısı), yerleşim yeri, çocukluk dönemi yerleşim yeri ve hanedeki tuvaletin konumudur. Eğitim düzeyi en son mezun olunan okul sorularak gruplandırılmıştır. Resmi eğitim görmeyenler 'okur-yazar değil' veya 'okur-yazar' olarak gruplandırılmıştır. İlkokul çağında olanlar 'halen ilkökula devam ediyor' veya ilkököl çağında altıncı olanlar 'ilkokul çağında değil' olarak gruplandırılmıştır. Yaş, yıllık kişi başı eşdeğer gelir, mesleki durum, hanedeki kişi sayısı, hanedeki oda sayısı ankette açık uçlu sorular sorularak toplanmış ve analiz için gruplandırılmıştır. Mesleki durum; işsiz (işsiz iş arıyor/ev kadını iş arıyor), iş gücü dışında olanlar (işsiz iş aramıyor/ev kadını iş aramıyor), öğrenci, üretim işçisi (sanayi ve fabrika vb. işlerde çalışanlar), beceri gerektiren/ profesyonel meslekler (doktor, mühendis vb.), işveren (yanında sürekli işçi çalıştıran, toprağı olup işçi çalıştıran), düzensiz gelirli (tezgahtar/garson vb işlerde çalışanlar), tarım işçileri, kendi hesabına çalışan esnaf (yanında işçi çalıştırmayan) olarak sınıflandırılmıştır. Öğrenciler çıkartılıp 'çalışan' ve 'çalışmayan' olarak tekrar gruplandırılmıştır. Çalışmayan grup işsiz ve işgücü dışında olanlardan oluşmakta, çalışan grup ise üretim işçisi, beceri gerektiren/ profesyonel meslekler, işveren, düzensiz gelirli, tarım işçileri ve kendi hesabına çalışan esnaftan oluşmaktadır (7). Yıllık kişi başı gelir; hane halkı toplam yıllık gelirinin eşdeğer hane halkı büyüklüğüne bölünmesiyle hesaplanmıştır (8). Bulunan yıllık kişi başı eşdeğer gelirin ortancası

3265TL bulunup; 3265TL ve altında ve 3265TL üstünde gelire sahip olanlar olarak iki gruba ayrılmıştır. Bağımsız değişkenlerle bağımlı değişkenler arasındaki ilişki kategorik değişkenler için ki-kare testi ile incelenmiştir. Her bir değişkene ait kaba ve yaşa göre düzeltilmiş Odds ratio (OR) ve %95 güven aralıkları (GA) lojistik regresyon yöntemiyle hesaplanmıştır. Veri çözümlemesi SPSS 15.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır.

## BULGULAR

Araştırma grubunun sosyodemografik özelliklerinin dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir. Araştırma grubunun %52,1'i kadın, %77,2'si çevre ilçelerde yaşamakta, %25,8'i iş gücü dışında, %18,3'ü üretim işçisi, %15,4'ü tarım işçisidir.

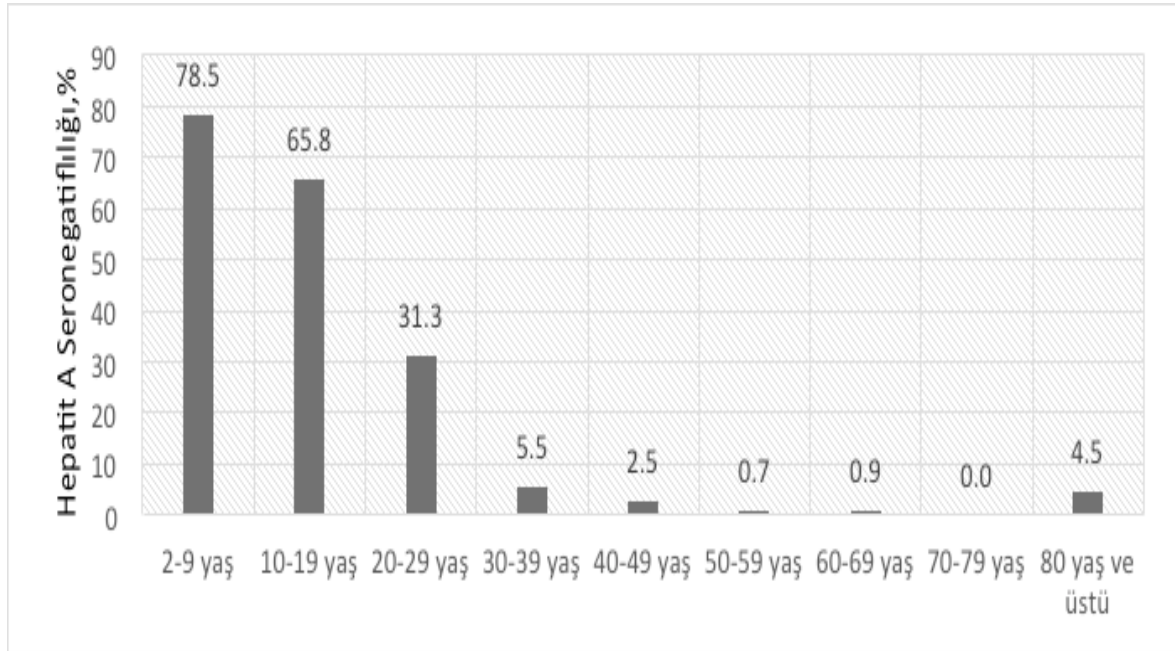
Araştırmada hepatit A seronegatif kişilerin yaş gruplarına göre dağılımı Şekil 1'de gösterilmiştir. Araştırma grubunda hepatit A seronegatifliği %24,4'tür. Hepatit A seronegatifliğinin en yüksek olduğu yaş grupları 2-9, 10-19 ve 20-29 olup sırasıyla, %78,5, %65,8 ve %31,3 olarak bulunmuştur. Otuz yaş üstü gruplarda seronegatiflik sıklığı %0,0-%5,5 olarak değişmektedir. Yaş arttıkça seronegatiflik sıklığı azalmaktadır.

Araştırmada, ilçelerde Toplum Sağlığı Merkezi alanlarında hepatit A seronegatifliği oranı ve ilçe nüfusları dağılımı Şekil 2'de gösterilmiştir. Hepatit A seronegatifliği ile nüfus arasında doğrusal bir ilişki yoktur ( $k=-0,14$ ,  $p=0,57$ ).

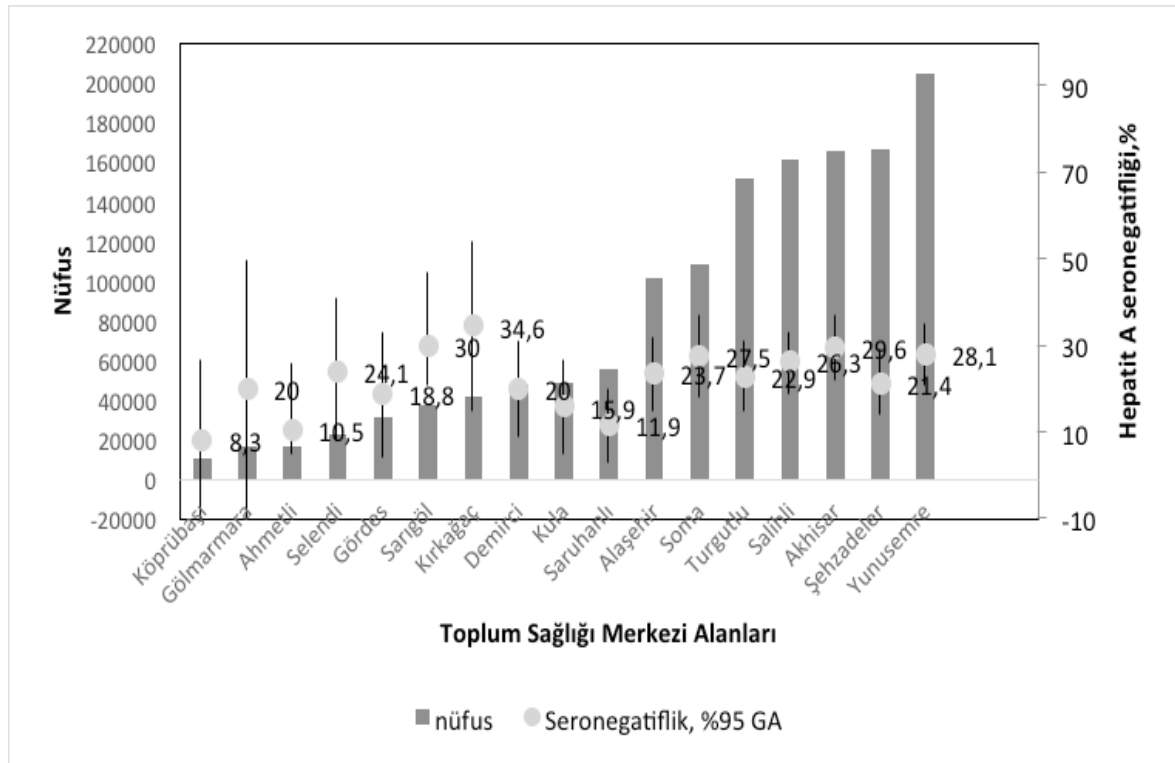
Araştırmada, hepatit A seronegatif olmanın sosyal belirleyicilerle ilişkisi ve yaşa göre düzeltilmiş risk düzeyleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Hepatit A seronegatifliği ile çocukluk dönemi yerleşim yeri, öğrenim durumu, mesleki durum, algılanan gelir düzeyi ve evdeki tuvaletin konumu arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır, ancak yaşa göre düzeltildiğinde bu ilişki ortadan kalkmıştır. Hepatit A seronegatifliği ile yıllık kişi başı eşdeğer gelir arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Yaşa göre düzeltildiğinde yıllık kişi başı eşdeğer geliri  $\leq 3265$  TL olmanın hepatit A seronegatifliği azaltıcı etkisi olduğu belirlenmiştir (OR:0,61, %95GA: 0,42-0,90). Hepatit A seronegatifliği ile hane yoğunluğu

Tablo 1. Araştırma grubunun sosyodemografik özelliklerinin dağılımı

Özellik (n)	N	%
<b>Cinsiyet (1223)</b>		
Erkek	586	47,9
Kadın	637	52,1
<b>Yaş grubu (1223)</b>		
2-9 yaş	135	11,0
10-19 yaş	187	15,3
20-29 yaş	166	13,6
30-39 yaş	183	15,0
40- 49 yaş	199	16,3
50-59 yaş	152	12,4
60-69 yaş	107	8,7
70-79 yaş	72	5,9
80 yaş ve üstü	22	1,8
<b>Yerleşim yeri (1223)</b>		
Çevre ilçe	944	77,2
Merkez ilçe	279	22,8
<b>Çocukluk dönemi yerleşim yeri (1218)</b>		
İl	228	18,6
İlçe	420	34,5
Köy	560	46,0
Yurtdışı	10	0,9
<b>Öğrenim durumu (1222)</b>		
Okur yazar değil	98	8,0
Okur yazar	37	3,0
İlkokul	523	42,8
Ortaokul	174	14,2
Lise	146	11,9
Üniversite veya üstü	88	7,2
Okul çağında olmayan	61	5,0
Halen ilkokul öğrencisi	95	7,8
<b>Mesleki durum (1219)</b>		
İşsiz (işsiz iş arıyor/ev kadını iş arıyor)	67	5,5
İş gücü dışında olanlar (işsiz iş aramıyor/ev kadını iş aramıyor)	315	25,8
Öğrenci	87	7,1
Üretim işçisi (sanayi ve fabrika vb. işlerde çalışanlar)	223	18,3
Beceri gerektiren/profesyonel meslekler (doktor,mühendis vb.)	111	9,1
İşveren (3 den az veya daha fazla işçi çalıştıran, toprağı olup işçi çalıştıran)	47	3,9
Düzensiz geliri (tezgahtar/garson vb işlerde çalışanlar)	132	10,8
Tarım işçileri	188	15,4
Kendi hesabına çalışan esnaf (yanında işçi çalıştırmayan)	49	4,0
<b>Algılanan gelir düzeyi (1218)</b>		
Geliri giderinden fazla	80	6,6
Geliri gideri ile denk	631	51,8
Geliri giderinden az	507	41,6
<b>Yıllık kişi başı eşdeğer gelir (TL) (1181)</b>		
≤ 3265	698	50,6
> 3265	583	49,4
<b>Hane yoğunluğu (1222)</b>		
Kişi sayısı 1 ve altı	686	56,1
Kişi sayısı 1'den fazla	536	43,9
<b>Evdeki tuvaletin konumu (1218)</b>		
İçeride	913	75,0
Dışarıda	259	21,2
Hem içeride hem dışarıda	46	3,7



Şekil 1. Hepatit A seronegatif kişilerin yaş gruplarına göre dağılımı



Şekil 2. İlçelerde toplum sağlığı merkezi alanlarında hepatit A seronegatifliği oranı (%95 GA) ve ilçe nüfusları dağılımı



Tablo 2. Hepatit A seronegatifliğinin sosyal belirleyicilerle ilişkisi, yaşa göre düzeltilmiş OR

Özellik (n)	Anti-HAV seronegatifliği n, %	Kaba OR <sup>a</sup> (95% GA <sup>b</sup> )	Yaşa göre düzeltilmiş OR <sup>a</sup> (%95 GA <sup>b</sup> )
<b>Cinsiyet (1223)</b>			
Erkek	151 (25,8)	1,14 (0,88-1,48)	0,98 (0,68-1,40)
Kadın	148 (23,2)	1	1
<b>Yerleşim yeri (1223)</b>			
Çevre ilçe	230 (24,4)	1	1
Merkez ilçe	69 (24,7)	1,02 (0,74-1,39)	1,08 (0,71-1,65)
<b>Çocukluk dönemi yerleşim yeri (1218)</b>			
İl / Yurtdışı	43 (18,1)	1	1
İlçe	116 (27,6)	1,73 (1,16-2,56)	1,41 (0,82-2,41)
Köy	136 (24,3)	1,45 (0,99-2,13)	0,78 (0,47-1,32)
<b>Öğrenim durumu (1222)</b>			
Okur yazar değil/ Okur yazar/ İlkokul	65 (9,9)	1	1
Ortaokul /Lise/ Üniversite veya üstü	109 (26,7)	3,32 (2,37-4,65)	1,45 (0,95-2,20)
Okul çağında olmayan/ Halen İlkokul öğrencisi	124 (79,5)	35,35 (22,19-56,30)	1,07 (0,57-2,00)
<b>Mesleki durum (1219)</b>			
İşsiz (işsiz iş arıyor/ev kadını iş arıyor)	10 (14,9)	1,66 (0,77-3,60)	0,90 (0,37-2,15)
İş gücü dışında olanlar (işsiz iş aramıyor/ev kadını iş aramıyor)	30 (9,5)	1	1
Öğrenci	54 (62,1)	-	-
Üretim işçisi (sanayi ve fabrika vb. işlerde çalışanlar)	68 (30,5)	4,16 (2,60-6,68)	0,61 (0,32-1,15)
Beceri gerektiren/profesyonel meslekler (doktor,mühendis vb.)	30 (27,0)	3,51 (2,01-6,17)	1,93 (0,92-4,05)
İşveren (3 den az veya daha fazla işçi çalıştıran, toprağı olup işçi çalıştıran)	12 (25,5)	3,25 (1,52-6,93)	1,26 (0,43-3,71)
Düzensiz geliri (tezgahtar/garson vb işlerde çalışanlar)	39 (29,5)	3,98 (2,34-6,77)	0,66 (0,33-1,35)
Tarım işçileri	38 (20,2)	2,41 (1,43-4,04)	0,93 (0,45-1,94)
Kendi hesabına çalışan esnaf (yanında işçi çalıştırmayan)	17 (34,7)	5,04 (2,51-10,14)	1,83 (0,61-5,54)
<b>Algılanan gelir düzeyi (1218)</b>			
Geliri giderinden fazla	14 (17,5)	1	1
Geliri gideri ile denk	182 (28,8)	1,91 (1,04-3,48)	1,88 (0,90-3,93)
Geliri giderinden az	102 (20,1)	1,18 (0,64-2,19)	1,08 (0,50-2,32)
<b>Yıllık kişi başı eşdeğer gelir (TL) (1181)</b>			
≤ 3265	158 (26,4)	1,21 (0,93-1,58)	0,61 (0,42-0,90)
> 3265	133 (22,8)	1	1
<b>Hane yoğunluğu (1222)</b>			
Kişi sayısı 1 ve altı	147 (21,4)	1	1
Kişi sayısı 1'den fazla	152 (28,4)	1,45 (1,11-1,88)	0,48 (0,32-0,71)
<b>Hanedeki tuvaletin konumu (1218)</b>			
İçeride	245 (26,8)	1,74 (1,25-2,42)	1,20 (0,77-1,88)
Dışarıda /Her iki yerde	53 (17,4)	1	1

\*Mesleki durum değerlendirilirken öğrenciler çıkarılarak analiz yapılmıştır.

<sup>a</sup> Odds Ratio<sup>b</sup> Güven Aralığı

arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Yaşa göre düzeltildiğinde hane yoğunluğuna göre kişi sayısı 1'den fazla olanların hepatit A seronegatifliği azaltıcı etkisi olduğu saptanmıştır (OR:0,48, %95 GA: 0,32-0,71). Hepatit A seronegatifliği ile cinsiyet ve yerleşim yeri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

## TARTIŞMA

Araştırmada hepatit A seronegatifliği %24,4 bulunmuştur. Hepatit A seronegatifliği ilkökul ve altı döneme karşılık gelen 2-9 yaş grubunda en yüksektir. Yaşın ilerlemesiyle birlikte seronegatiflik azalmakta, 30 yaş gruplarında %0,0-5,5 arasında değişmektedir. Ülkemizde rutin hepatit A bağışıklama programının 2012 yılında başlaması ve örneklerin 2014 yılında iki yaşında olan kişilerden toplanmış olması nedeniyle araştırma sonuçları aşılama öncesi dönemi yansıtmaktadır.

Yoldaş ve ark. (9), 2012'de yaptığı derlemede ülkemizde hepatit A seronegatifliğinin %12-92 arasında olduğu, yaşa ve bölgeye göre değiştiği belirtilmiştir. Ülkemizin batı ve orta bölgeleri orta endemik olarak değerlendirilmektedir. Bölgelere ve il içindeki farklı yerleşim alanlarına göre seropozitiflik değişmektedir (10, 11-14). Ayrıca, son 15 yılda hepatit A insidansının azaldığı ve bu azalmanın orta endemik olan kentsel alanlarda devam ettiği ve düşük endemiğe doğru ilerlediği düşünülmektedir (13). Yapılan çalışmalarda, çocuklarda hepatit A seronegatifliği %20-65 arasında olup son yıllarda artış gözlenmiştir (14). Köroğlu ve ark. (14), yaptığı çalışmada 0-10 yaşta hepatit A seronegatifliği %57,2, Çitil ve ark. (15) yaptığı çalışmada, 0-4 yaşta anti-HAV seronegatifliği %63,0, 5-9 yaş %48,0, 10-14 yaş %34,0, Kurugöl ve ark. (10) yaptığı çalışmada, 5-6 yaşta Anti-HAV IgG seronegatifliği %89,7, 7-9 yaşta %78,9, 10-14 yaşta %76,8, Halicioğlu ve ark. (16) yaptığı çalışmada, 1-18 yaşta anti-HAV seronegatifliği %70,5, Ceran ve ark. (17) yaptığı çalışmada, 5-9 yaşta anti-HAV seronegatifliği %88,6, 10-14 yaş %71,0, 15-19 yaş %50,3 olarak bulunmuştur. Manisa araştırmasında hepatit A seronegatifliği çocukluk döneminde en yüksek olup 2-9, 10-19 ve

20-29 yaş gruplarında sırasıyla %78,5, %65,8 ve %31,3 olarak bulunmuştur. Özellikle çocuk, adolesan ve erken yetişkinlik döneminde diğer çalışmalara göre daha yüksek hepatit A seronegatifliği görülmüştür. Manisa araştırmasında, örnekler toplum içindeki sağlıklı bireylerden toplanmıştır. Diğer çalışmalarda hastaneye başvuran hastaların örnekleri üzerinden değerlendirme yapılmış olması bu farka yol açmış olabilir.

Yüksek endemiden düşük endemiğe geçiş olarak tanımlanan epidemiyolojik kayma yaşanan ülkelerde çocuklarda HAV endemisi düşüktür ve seronegatif adolesan ve yetişkin bireylerin artmasıyla salgın riski artabilir (18-20). Yapılan bir sistematik derlemelerde, Türkiye gibi iyi düzeyde temiz suya erişim ve sanitasyon koşulları olan ülkelerde hepatit A endemisi ile ekonomik değişkenlerin (gayri safi yurtiçi hasıla, gayri safi milli hasıla, insani gelişim indeksi) güçlü ilişkisi olduğu bulunmuştur (21). Manisa araştırmasında da benzer şekilde yıllık kişi başı eşdeğer gelir ile hepatit A seronegatifliği arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda da benzer şekilde geliri yüksek olanlarda ya da sosyoekonomik statüsü yüksek kişilerde hepatit A seronegatifliği daha yüksek bulunmuştur (10, 14, 17-20, 22, 24-27).

Manisa araştırmasında hane yoğunluğu ile hepatit A seronegatifliği arasında ters yönde anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda, da benzer yönde ev içi yoğunluk ile hepatit A seronegatifliği arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (10, 16, 20, 24, 26).

Manisa araştırmasında; cinsiyet, çocukluk dönemi yerleşim yeri, yerleşim yeri, öğrenim durumu, mesleki durum, algılanan gelir düzeyi ve hanedeki tuvaletin konumu ile hepatit A seronegatifliği arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Yapılan diğer çalışmalarda bu araştırmadan farklı olarak eğitim düzeyi yüksek olan ailelerde hepatit A seronegatifliği yüksek bulunmuştur (16, 17, 19, 24-26). Bu farkın, Manisa araştırmasında yaşa göre düzeltilerek ilişki bakılmasından ya da çalışmalar arasında farklı değişken tanımlama kriterleri kullanılmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Demiray ve ark. (23), 2017'da yaptığı sistematik derlemede, kent ve kır

arasında hepatit A endemi farklılığı bulunmuştur. Daha çok kırsal olan illerde yüksek endemi, daha çok kentsel alanı olan illerde orta endemi görülmüştür. Manisa araştırmasında kırsaldan kente göç olabileceğinden yapılan diğer çalışmalardan farklı bulunmuş olabilir.

Ülkemizde yapılan çalışmalar çoğunlukla hastaneye başvuran hastalar üzerinde yapıldığı, küçük örnek büyüklüğüne sahip oldukları ve genelde olasılıklı örnek seçimi yapılmadığı için sonuçların tüm topluma genellenmesi mümkün olamamaktadır. Bu araştırmanın güçlü yanları arasında, toplumdan rasgele örnekleme yöntemiyle seçilen görece büyük bir örnekte yapılmış olması nedeniyle Manisa popülasyonunu yansıtmaya ve HAV seroepidemiolojisi hakkında güncel veri sunması sayılabilir. Araştırmanın diğer bir güçlü yanı ise hepatit A seronegatifliğinin sosyal belirleyicilerle ilişkisini inceleyen toplum tabanlı bir çalışma olmasıdır. Araştırmanın bulguları, HAV açısından duyarlı grupların belirlenmesi ve bu gruplara yönelik önleyici sağlık

politikalarının geliştirilmesi ve değerlendirilmesinde kullanılabilir.

Araştırmanın temel kısıtlılığı ise kişilerden olası bulaş yolu, aşılama, hastalık semptomları gibi konularda öykü alınmamış olmasıdır. Hafıza faktörü ve hastalığın çocuk yaşta asemptomatik geçirilebilmesi nedeniyle söz konusu bilgilerin güvenilir olmayacağı düşünülmüştür.

Manisa nüfusunda hepatit A seronegatiflik sıklığı çocukluk, adolesan ve erken yetişkinlik döneminde yüksektir. Çocukluk döneminde bulaştırıcılığın yüksek olması ve ilerleyen yaşla birlikte morbidite ve mortalitenin artması nedeniyle hem çocukların korunması hem de toplumsal bağışıklık sağlanması için aşılama yapılması önerilmektedir. Sağlık hizmet gereksinimi belirlenirken seronegatifliğinin yüksek olduğu bölgeler, düşük gelirli aileler ve kalabalık aileler öncelenecek bağışıklama hizmeti ve sağlık eğitimi hizmeti verilmelidir.

## TEŞEKKÜR

'Manisa'da aşıyla önlenebilir bazı hastalıkların seroprevalansının belirlenmesi, 2013' Araştırmanın yapılması için gerekli resmi iznin verilmesine ve Manisa Halk Sağlığı Müdürlüğü olanaklarının kullanılmasını sağladıkları için Dr. Ziya Tay, Dr. Galip Köroğlu ve Dr. Mustafa Sertel'e çalışmanın planlama, veri toplama ve veri girişinde görev aldıkları için Uzm. Dr. Yasin Sağlam, Uzm. Dr. Can Hüseyin Hekimoğlu, Uzm. Dr. Ali Ceylan, Phd. Ayla Açıkgöz, Uzm. Dr. Duygu İşlek, Uzm. Dr. Nur Demirpençe, Uzm. Dr. Ümran Kolukıncık, Uzm. Dr. Elif Sanem Baykal'a teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

1. Anderson DA, Counihan NA. Hepatitis A and E Viruses. In: Jorgensen JH, Pfaller MA, eds. Manual of Clinical Microbiology. 11 th ed. Washington DC. ASM Press,2015:1584-98.
2. Jacobsen KH, Wiersma ST. Hepatitis A virus seroprevalence by age and world region, 1990 and 2005. Vaccine. 2010;28(41):6653-7. doi: 10.1016/j.vaccine.2010.08.037
3. Hepatitis A [Internet]. [cited 2019 May 24]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-a>.
4. The global prevalence of hepatitis A virus infection and susceptibility : a systematic review [Internet]. [cited 2019 May 24]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/70180>.
5. İşlek D, Emek M, Ceylan A, Acikgoz A, Demirpençe N, Sağlam Y, et al. PP65 Prevalence and social determinants of mental illness in a district population in Turkey. J Epidemiol Community Health, 2015;69(Suppl 1):A80-1. doi: 10.1136/jech-2015-206256.162.

6. Emek M, Islek D, Atasoylu G, Ozbek OA, Ceylan A, Acikgoz A, et al. Association between seroprevalence of measles and various social determinants in the year following a measles outbreak in Turkey. *Public Health*. 2017 Jun;147:51-8. doi: 10.1016/j.puhe.2017.01.026.
7. Boratav K. İstanbul ve Anadolu'dan Sınıf Profilleri. 2. Baskı. Ankara: İmge Kitabevi. 2004.
8. Eşdeğerlik Ölçeği [Internet]. [cited 2019 May 24]. Available from: [http://www.tuik.gov.tr/MicroVeri/GYKA\\_2011/turkce/metaveri/tanim/essdegerlik-oelcegi/index.html](http://www.tuik.gov.tr/MicroVeri/GYKA_2011/turkce/metaveri/tanim/essdegerlik-oelcegi/index.html).
9. Yoldaş Ö, Bulut A, Altındış M. Hepatit enfeksiyonlarına güncel yaklaşım. *Viral Hepat J* 2012;18 (3),81-6. doi: 10.4274/Vhd.35744.
10. Kurugöl Z, Aslan A, Türkoglu E, Koturoglu G. Changing epidemiology of hepatitis A infection in Izmir, Turkey. *Vaccine*, 2011;29(37):6259-61. doi: 10.1016/j.vaccine.2011.06.069.
11. Tosun T. Viral hepatitlerin ülkemizdeki değişen epidemiyolojisi. *Ankem*, 2013;27(ek):128-134.
12. Ceyhan M, Yıldırım I, Kurt N, Uysal G, Dikici B, Ecevit C, et al. Differences in hepatitis A seroprevalence among geographical regions in Turkey: a need for regional vaccination recommendations. *J Viral Hepat*. 2008 Oct;15 Suppl 2:69-72. doi: 10.1111/j.1365-2893.2008.01034.x.
13. Demiray T, Köroğlu M, Jacobsen KH, Özbek A, Terzi HA, Altındış M. Hepatitis A virus epidemiology in Turkey as universal childhood vaccination begins: seroprevalence and endemicity by region. *Türk J Pediatr*, 2016;58(5):480-91. doi: 10.24953/turkjped.2016.05.004.
14. Köroğlu M, Demiray T, Terzi HA, Altındış M. Seroprevalence of Hepatitis A among Different Age Groups in Sakarya and Review of The Literature. *Viral Hepat J*, 2014;20(3):110-4. doi: 10.4274/vhd.63825.
15. Çitil BE, Sayiner HS, Akgün S, Aksöz S. The seroprevalence of hepatitis A in Adıyaman -. *Journal of Contemporary Medicine [Internet]*. 2015 [cited 2019 May 24];5(3):157-62. doi: 10.16899/ctd.05415.
16. Halicioğlu O, Akman SA, Tatar B, Atesli R, Kose S. Hepatitis A seroprevalence in children and adolescents aged 1-18 years among a low socioeconomic population in Izmir, Turkey. *Travel Med Infect Dis*. 2012 Jan;10(1):43-7. doi: 10.1016/j.tmaid.2012.01.001.
17. Ceran N, Yüksel Kocdogan F, Mert D, Erdem İ, Dede B, Adaleti R, et al. Hepatitis a seroprevalence in children and young adults in Istanbul, Turkey: seroprevalence change and associated factors. *J Viral Hepat*, 2012;19(1):72-6. doi: 10.1111/j.1365-2893.2011.01454.x.
18. Yessé ZN, Thérèse KAB, Serge OA, Everali A, Guillaume LY. Seroprevalence and risk factors of hepatitis A virus among school children from different socioeconomic status in Abidjan, Cote D'Ivoire. *J Med Med Sci*, 2010;1(3):65-70.
19. Termorshuizen F, Dorigo-Zetsma JW, de Melker HE, van den Hof S, Conyn-Van Spaendonck MA. The prevalence of antibodies to hepatitis A virus and its determinants in The Netherlands: a population-based survey. *Epidemiol Infect*, 2000;124(3):459-66. [PubMed:10982070].
20. Karaman S, Karaman K, Kızılyıldız BS, Ceylan N, Kaba S, Parlak M, et al. Seroprevalence of hepatitis a and associated factors among 1-15 year old children in Eastern Turkey. *Int J Clin Exp Med*, 2015;8(10):19394-9. [PubMed: 26770581].
21. Koroglu M, Jacobsen KH, Demiray T, Ozbek A, Erkorkmaz U, Altindis M. Socioeconomic indicators are strong predictors of hepatitis A seroprevalence rates in the Middle East and North Africa. *J Infect Public Health*, 2017;10(5):513-17. doi: 10.1016/j.jiph.2016.09.020.
22. Sa-nguanmoo P, Posuwan N, Vichaiwattana P, Vuthitanachot V, Saelao S, Foonoi M, et al. Declining Trend of Hepatitis A Seroepidemiology in Association with Improved Public Health and Economic Status of Thailand. *PLoS ONE*. 2016;11(3):e0151304. doi: 10.1371/journal.pone.0151304.
23. Chung GE, Yim JY, Kim D, Lim SH, Park MJ, Kim YS, et al. Seroprevalence of Hepatitis A and Associated Socioeconomic Factors in Young Healthy Korean Adults. *Gut Liver*, 2011;5(1):88-92. doi: 10.5009/gnl.2011.5.1.88.
24. Özkinay F, Kurugöl Z, Koturoğlu G, Özacar T, Altuğlu i, Vardar F, et al. The epidemiology of Hepatitis A infection in the population of Bornova, Izmir, Turkey. *Ege Tıp Derg*, 2007;46(1):1-6.
25. Yapicioglu H, Alhan E, Yıldızdas D, Yaman A, Bozdemir N. Prevalence of hepatitis A in children and adolescents in Adana, Turkey. *Indian Pediatr*, 2002;39(10):936-41. [PubMed:12428039].
26. Kaya AD, Ozturk CE, Yavuz T, Ozaydin C, Bahcebasi T. Changing patterns of hepatitis A and E sero-prevalences in children after the 1999 earthquakes in Duzce, Turkey. *J Paediatr Child Health*, 2008;44(4):205-7. doi: 10.1111/j.1440-1754.2007.01248.x.
27. Salama II, Samy SM, Shaaban FA, Hassanin AI, Abou Ismail LA. Seroprevalence of hepatitis A among children of different socioeconomic status in Cairo. *East Mediterr Health J*. 2007 Dec;13(6):1256-64. [PubMed:18341176].

# Outbreak of *Shigella sonnei* infection in Terme City, Turkey, September 2012

## Terme ilçesinde *Shigella sonnei* enfeksiyonu salgını, Türkiye, Eylül 2012

Selmur TOPAL<sup>1</sup>, Hüseyin ÇELİK<sup>2</sup>, Şenol YILMAZ<sup>3</sup>, Erdinç ÖZOĞLU<sup>4</sup>, Okan KARAOĞLANOĞLU<sup>4</sup>, Fehminaz TEMEL<sup>1</sup>, Hülya ŞİRİN<sup>5</sup>

### ABSTRACT

**Objective:** Waterborne outbreaks occur in Turkey every year; however, few have been thoroughly investigated. On 24 September 2012, an increase in gastroenteritis cases in Terme City, Samsun Province was reported to the Public Health Institution of Turkey. We investigated this outbreak to determine its source and mode of transmission, and to recommend control measures.

**Methods:** A matched case control investigation was conducted. A probable case had onset of diarrhoea ( $\geq 2$ /day) and vomiting plus  $\geq 2$  of the following symptoms in a Terme City resident: abdominal pain, nausea, perceived fever. In the study, we compared exposures during 15-24 September, of probable cases and 1:1 matched neighbourhood control-persons. We took stool samples of 33 cases to identify the agent and for bacteriological, viral and parasitological tests. We inspected the water sources, water distribution system and tanks for possible cause of contamination and collected water samples.

**Results:** We identified 4050 hospital admissions with gastroenteritis-related ICD codes from acute gastroenteritis surveillance data. The attack rate was

### ÖZET

**Amaç:** Türkiye’de her yıl su kaynaklı akut gastroenterit salgınları görülmekle birlikte bunların sadece bazıları ayrıntılı olarak araştırılmaktadır. Samsun Halk Sağlığı Müdürlüğü, 24 Eylül 2012 tarihinde, Terme ilçesinde akut gastroenterit vakalarında artış olduğunu Türkiye Halk Sağlığı Kurumu’na bildirmiştir. Bu çalışmada, salgının kaynağını ve bulaş yolunu tespit etmek ve salgın ile ilgili kontrol önlemlerini almak amacı ile yapılmıştır.

**Yöntem:** Eşleştirilmiş vaka kontrol çalışması yapılmıştır. Araştırmada olası vaka Terme ilçesinde ikamet eden, günde iki ve daha fazla ishal, kusma veya karın ağrısı, bulantı, ateş ve diğer semptomlardan iki ve daha fazlasına sahip olan kişi olarak tanımlanmıştır. Çalışmada, 15-24 Eylül tarihleri arasında hastaneye başvuran olası vakalar ve bunların 1:1 eşleştirme ile komşularından seçilen kontroller maruziyet açısından karşılaştırılmıştır. Etkenin tespit edilmesi için hastaneye başvuran vakaların 33’ünden gaita numunesi alınmış, mikrobiyolojik, viral ve parazitolojik inceleme yapılmıştır. Salgına neden olduğu düşünülen kontaminasyonun tespit edilmesi amacı ile su kaynakları, deposu ve su şebeke sistemi de incelenmiş ve su örnekleri alınmıştır.

**Bulgular:** Akut barsak enfeksiyonu sürveyans

<sup>1</sup> Public Health Institution of Turkey, Early Warning and Response and Field Epidemiology Department, Ankara

<sup>2</sup> Public Health Institution of Turkey, Communicable Diseases Department, Ankara

<sup>3</sup> Public Health Institution of Turkey, Environmental Health Department, Ankara

<sup>4</sup> Public Health Institution of Turkey, Samsun Provincial Health Directorate, Samsun

<sup>5</sup> Public Health Institution of Turkey, Office of the Presidency, Ankara



İletişim / Corresponding Author : SELMUR TOPAL

Sağlık Mahallesi Adnan Saygun Cad. Refik Saydam Yerleşkesi No:55 06100 Ankara - Türkiye  
Tel : +90 542 674 60 99 E-posta / E-mail : selmurtopal@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 10.04.2018  
Kabul Tarihi / Accepted : 20.10.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.90277

Topal S, Çelik H, Yılmaz Ş, Özöğlü E, Karaoğlanoğlu O, Temel F, Şirin H. Outbreak of *Shigella sonnei* infection in Terme City, Turkey, September 2012. Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(2): 141-148

9.2% in this outbreak investigation, of 112 probable cases, 65% had drunk unboiled tap-water during 15-24 September, compared to 50% of 112 control-persons (ORadj=1.9; 95% CI: 1.1-3.5); conversely, 39% of case-patients and 54% of control-persons had drunk bottled water (ORadj=0.51, 95% CI: 0.29-0.90). Of 33 stool specimens collected, 27 were culture-positive for *S. sonnei*; of 52 water samples collected at various distribution points, 18 had total coliform (range: 47-500) and four had *Escherichia coli* (range: 5-20). Environmental investigation revealed a damaged water-pipe nearby the water tank.

**Conclusion:** This large *Shigella sonnei* outbreak was caused by drinking contaminated tap-water. We recommended thorough inspection and repair of water treatment system.

**Key Words:** *Shigella sonnei*, outbreaks, drinking water, case-control studies

verilerinin incelenmesinde hastaneye 4050 gastroenterit tanısı ile ilişkili ICD10 tanı kodları ile başvuru olduğu belirlenmiştir. Atak hızı %9,2'dir. Salgın incelemesinde 112 olası vakanın %65'inin kontrollerin ise %50'sinin musluk suyu içtiği (ORadj=1,9; %95 GA: 1,1-3,5), buna karşılık vakaların %39'unun kontrollerin ise %54'ünün şişe suyu içtikleri (ORadj=0.51, %95 GA: 0.29-0.90) belirlenmiştir. Toplanan 33 gaita örneğinin 27'sinde kültür sonucu *S. sonnei*, değişik noktalardan alınan 52 su örneğinin 18'inde total koliform (47-500) ve dört'ünde *Escherichia coli* (5-20) tespit edilmiştir. Çevresel incelemede, su deposunun yakınlarında kırık su borusu tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Bu geniş çaplı salgın, kontamine musluk suyunun içilmesine bağlı büyük bir *S. sonnei* salgınıdır. Su şebeke sisteminin incelenmesi ve tamir edilmesi sağlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Shigella sonnei*, salgın, içme suyu, vaka-kontrol çalışması

## INTRODUCTION

Shigellosis is a gastrointestinal infection by *Shigella* spp. characterized by symptoms such as watery, mucous, or bloody, diarrhoea, fever, abdominal pain and tenesmus (1,2). The causative agent, *Shigella* spp., consisted of four serogroups; *S. dysenteriae* (Serogroup A), *S. flexneri* (Serogroup B), *S. boydii* (Serogroup C), and *S. sonnei* (Serogroup D). *S. sonnei* is predominant in industrialized countries and causes the mildest disease (3,4). Shigellosis is a significant public health problem in developing countries where it remains a major cause of diarrhoea-related morbidity and mortality, especially among children (5,6). The disease spreads more easily in places with insufficient personal hygiene and sanitation. *Shigella* spp. have very low infectious dose; for some *Shigella* subspecies the infectious dose could be as low as fewer than 10 organisms (4,7-

9). In many parts of the world, *S. sonnei* is a common agent of food- and water-borne gastrointestinal diseases and dysentery. Shigellosis due to *S. sonnei* is more frequent in industrialized countries (3,5,10). In Turkey, it is revealed that shigella gastroenteritis is common and, mainly caused by *S. sonnei* (11-13).

On 24 September 2012, an increase in gastroenteritis cases in Terme City, Samsun Province was reported to the Public Health Institution of Turkey. Terme City is a small town on the Coast of the Black Sea, with a population of 73094 (including 31163 living in the city centre and 41931 living in villages and municipalities population). We conducted an investigation to determine the agent, cause, and mode of transmission of this outbreak.

## MATERIAL and METHOD

### Case definition

In this investigation we defined a suspected case as diagnosis during 24-26 September 2012 at Terme Hospital of gastroenteritis-related ICD-10 codes (i.e., A04.9-Bacterial intestinal infection; unspecified; A09 - Infectious gastroenteritis and colitis, unspecified; K52 - Non-infectious gastroenteritis; and R11 - Nausea or vomiting) in a resident of Terme City, Samsun Province. A probable case was a suspected case with onset of diarrhoea ( $\geq 3$ /day) or vomiting plus  $\geq 2$  of the following symptoms: abdominal pain, nausea, perceived fever. We reviewed medical records of patients who sought care at local hospitals during 24-26 September 2012 to find the cases.

### Selection of cases and controls

In this case-control investigation, we randomly selected 130 suspected cases and 130 asymptomatic neighbourhood controls. Controls were selected among the household members in the house on the right-hand side of the cases' house-matched by age group (0, 1-4, 5-9, ....  $\geq 65$  years). Trained staff from the local public health directorate used a questionnaire to collect the cases and controls demographic information, symptoms, hospital visit, medication, and risk factors such as water and food consumption. Our analysis was restricted to 112 probable cases and the 112 matched controls.

### Microbiological studies

We inspected the water system of the city, and collected water samples from different points in the system for microbiological analysis. We cultured the water samples to identify common bacterial pathogens (including total coliform, *E. coli*, *Clostridium perfringens*). Viral pathogens in water cannot be tested in Turkey. We also collected cases' stool specimens and used PCR (polymerase chain reaction) to identify common viral pathogens (including rotavirus, adenovirus, norovirus, astrovirus) and common

bacterial pathogens (including *Salmonella*, *Shigella* spp. and *E. coli* 157 *Vibrio cholerae* O1 and O139, *Campylobacter* spp., *Aeromonas* spp., *Entamoeba histolytica*, *Giardia* and *Cryptosporidium*). We also used Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Direct Fluorescent Antibody (DFA) to identify common parasites (including *Giardia*, *Cryptosporidium*, *Entamoeba histolytica*) in the stool specimens.

### Statistical analysis

The statistical analysis was carried out using the SPSS statistical program. Categorical variables were presented as percentages. Conditional logistic regression model analysis was used to determine the risk factors and to control for confounding. Sex, tap water and bottled water were included in the model. Statistical significance level was determined as  $p < 0.05$ .

The research was conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki.

## RESULTS

Evaluation of data collected from hospitals showed that, compared with September 2011, the number of patients with gastroenteritis-related ICD-10 codes increased sharply on 24 September 2012, peaked on 26 September, and sharply declined afterwards (Figure 1). In total 4239 outpatient visits were made to the healthcare facilities (hospitals, family physician centers in total) in the city during 25 September-01 October. A total of 2825 outpatient visits occurred in the city during 24-30 September 2012, compared with 1010 visits during the same time period in 2011. A total of 52 patients were hospitalized in Terme during 24 September - 01 October.

The overall attack rate was 9.2% in the downtown. The different districts in the city had similar attack rates, ranging from 8%-12%. All age groups were affected by the disease; the 5-9-year age-group had the highest attack rate (18.7%) (Figure 2). The attack rate was similar in males (4.8%) and females (5.3%).

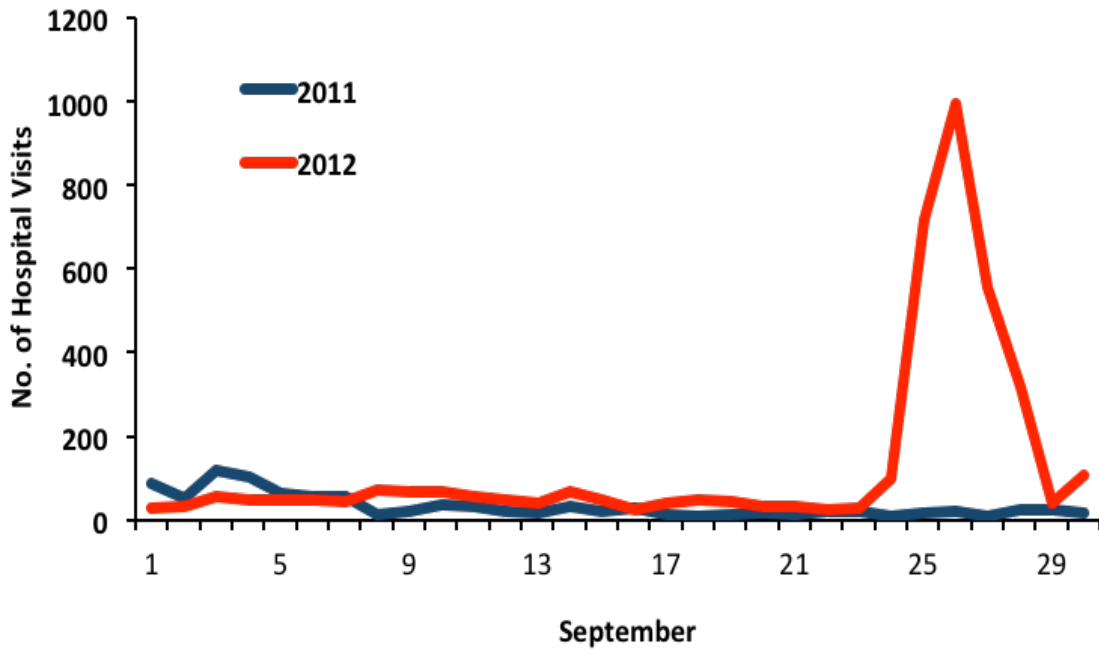


Figure 1. Number of hospital outpatient visits due to acute gastroenteritis (ICD 10:A09, A04.9, R11, K52) in September, 2011 vs. 2012: Terme District, Samsun province, Turkey

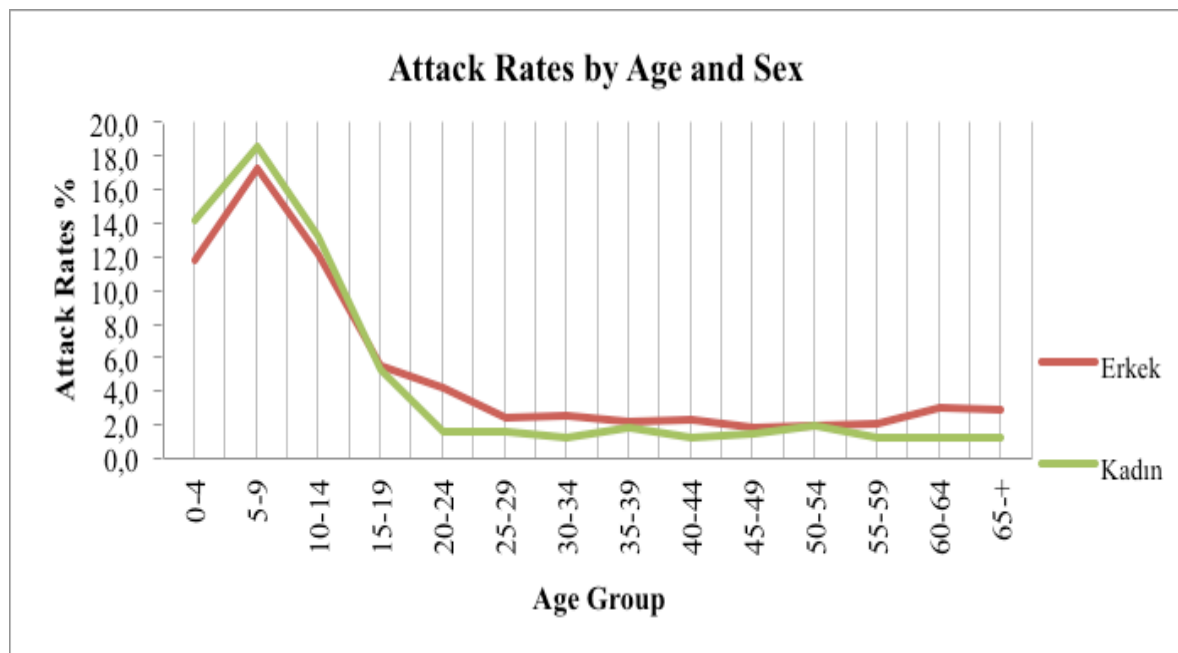


Figure 2. Attack rates by age and sex - Terme City, Turkey, September 2012



Of the 112 probable cases in the case-control study, common symptoms included diarrhoea, fever, abdominal pain, nausea, and vomiting (Table 1). Cases and controls were compatible with respect to age- and sex- distribution. When we investigated the water that the cases and controls drank during 18-24 September 2012 (one week before the outbreak occurred), drinking tap water was associated with a two-fold rise in the odds of being ill, compared to bottle water, after controlling for sex using conditional logistic regression ( $OR_{adj}=2.0$ , 95% CI: 1.2-3.6) (Table 2). We also investigated potential associations with food items and found no association.

A total of 33 stool samples were taken from

the suspected cases. *S. sonnei* was positive in 27 samples by bacterial culture. Of the 52 water samples collected from different points in the drinking water distribution system, total coliform was found in 18 samples (range: 47-500 colony forming units); *E. coli* was found in 4 samples (range: 5-20). Twenty percent of peripheral water samples had unsatisfactory chlorine levels (<0,2 ppm).

During the environmental investigation, we inspected the drinking water distribution system. We saw a recently broken water pipe; although the pipe had been repaired, the repair work was not completed appropriately; a puddle of water could be seen next to the repaired area (Figure 3).

**Table 1.** Symptoms of 112 probable cases during the outbreak of Shigellosis - Terme City, Samsun Province, Turkey

Symptom	n	%
Diarrhoea	112	100.0
Fever	108	96.4
Abdominal pain	104	92.9
Nausea	97	86.6
Vomiting	90	80.4

**Table 2.** Risk of Shigellosis infection by types of drinking water Terme City, Turkey September 2012

Types of drinking water	Cases		Controls		Total		$OR_{adj}^*$ (95% CI)
	n	%	n	%	n	%	
Only bottled water	34	30.9	52	46.4	86	38.7	1
Tap and bottled water	12	10.9	11	9.8	23	10.4	1.7 (0.7-4.3)
Only tap water	64	58.2	49	43.8	113	50.9	2.0 (1.2-3.6)
Total	110	49.5	112	50.5	222	100.0	

\*Controlled for sex



**Figure 3.** Leaked water from a broken drinking-water pipe was found during the outbreak of *Shigella sonnei* - Terme City, Turkey, September 2012

## DISCUSSION

During 24 September-01 October 2012, a sharp increase in the number of gastroenteritis patients occurred in Terme City, Samsun Province, Turkey, affecting more than one thousand residents of the city. Epidemiologic, laboratory investigation and environmental investigations showed that this was an outbreak of *S. sonnei* caused by drinking contaminated tap-water. Recent water pipe work likely had caused the water contamination.

*S. sonnei* is a common cause of bacillary dysentery in many countries. There are many potential sources of an outbreak due to *S. sonnei* (14). Drinking water associated outbreaks have been documented in the US, Europe and elsewhere (14-17).

*Shigella* is an exclusively human pathogen; therefore, the contamination of the tap-water must

come from the sewage system (4,18,19). Because *Shigella* has a very low infectious dose, waterborne outbreaks can easily occur when the drinking water source is contaminated by sewage (8,14,17). This epidemic curve indicated that this outbreak was caused by a point-source exposure. The sudden increase and sudden decline in the case counts during this outbreak indicated that this outbreak was due to a short time sewage contamination of the tap-water system (20).

The overall attack rate was 9.2% in the city. In some studies, similar attack rates have been reported (6, 14). In this outbreak, the attack rate was higher in children than in adults. This is consistent with previously published literature showing that outbreaks of *S. sonnei* infections commonly occur in child and young adults (5, 21-23). An investigation of a waterborne outbreak in Switzerland showed that

the attack rate was 95% in the 0-7 year age group, 96% in the 8-16 year age group, and 81% in persons aged  $\geq 16$  years (21). Another investigation of a waterborne outbreak in northern Israel showed that most of those affected were children under 15 years of age (22). An analysis of four outbreaks in different regions of Greece showed that the attack rate was 5-10 times higher in children and young adults than in adults (6). The higher attack rate in children is due to the fact that young children lack the immunity against *Shigella* which increases with age (6,14). Previous investigations of outbreaks caused by *S. sonnei* in Turkey also showed that children were more likely to be affected (24).

Drinking water comes from lakes, rivers, streams or underground sources. These sources of water are linked in a watershed through the water cycle. Drinking water sources, especially the surface water sources can be easily contaminated, causing major and costly problems that are sometimes extremely difficult to correct. All efforts should be made to identify possible pollution sources and to ensure implementation of appropriate strategies and plans

for water source protection (25,26).

Our study has two major limitations. We were unable to identify *Shigella* in water samples. Identifying the agent in water samples is difficult because detection techniques generally used can have a relatively low sensitivity and reliability; therefore, total coliform bacteria and *E. coli* in water samples serve as surrogate indicators of water contamination by sewage (5, 19, 21, 27). Although we identified an inappropriately repaired pipe, no sewage tank was near the location; therefore, we were unable to determine exactly how the tap-water system was contaminated by sewage.

In conclusion, this large outbreak of *S. sonnei* infection was likely caused by contamination of tap-water with sewage. We recommended that the tap-water treatment system be thoroughly inspected and repaired, and the chlorine levels in the tap-water be regularly monitored. Based on our recommendation, the public health directorate in Terme City installed a new chlorination device to chlorinate the tap-water regularly, fixed the broken pipe, and started to regularly and frequently monitor the chlorine levels.

## REFERENCES

1. Pickering LK, Baker JC, Long SS, McMillian JA. Red Book :2006 Report of the Committee on Infectious Diseases American Academy of Pediatrics 1. 27th ed. Elk Grove Village, IL, Sigma Publishing. 2006.
2. Heymann DL. Control of communicable diseases manual. American Public Health Association. 2008.
3. Nicolas X, Granier H, Le Guen P. Shigellosis or bacillary dysentery, La Presse Médicale, 2007; 36: 1606-1618.
4. Lee JC, Jeong YS, Oh JY, Kang HY, Kim KH, Kim J et al. Epidemiology of shigellosis in Korea. J Bacteriol Virology, 2006; 36: 41-49.
5. Arias C, Sala MR, Dominguez A, Bartolome R, Benavente A, Veciana P et al. Waterborne epidemic outbreak of *Shigella sonnei* gastroenteritis in Santa Maria de Palautordera, Catalonia, Spain, Epidemiol Infect, 2006; 134: 598-604.
6. Koutsotoli AD, Papassava ME, Maipa VE, Alamanos YP. Comparing shigella waterborne outbreaks in four different areas in Greece: common features and differences. Epidemiol Infect, 2006; 134: 157-162.
7. Kothary MH, Babu US. Infective dose of foodborne pathogens in volunteers: a review, J Food Safety, 2001; 2: 49-68.

8. Sur D, Ramamurthy T, Deen J, Bhattacharya SK. Shigellosis : challenges & management issues. *Indian J Med Res*, 2004; 120: 454-462.
9. Gutiérrez GI, Naranjo M, Forier A, Hendricks R, Schrijver KDE, Bertrand S, et al. Shigellosis outbreak linked to canteen-food consumption in a public institution: a matched case-control study. *Epidemiol Infect*, 2011; 139: 1956-1964.
10. Guzman-Herrador, BR, Nilsen E, Cudjoe KS, Jensvoll L, Kwamme JM, Lindegard Aanstad A, et al. Shigella sonnei outbreak traced to imported basil--the importance of good typing tools and produce traceability systems, Norway, 2011. *Euro Surveill*, 2013; 18:49.
11. Pullukçu H, Aydemir Ş, Sipahi OR, Yamazhan T, Tünger A. Species distribution and antibacterial resistance patterns of 439 shigella spp. strains isolated from stool cultures between 1999-2006. *ANKEM*, 2007; 21(3): 137-141.
12. Çelik C, Bakıcı MZ, Gözel MG, Dayı F, Kaygusuz R. Shigella species and antibiotic resistance distributions isolated from fecal samples between 2002-2011. *ANKEM*, 2012; 26: 143-147.
13. Kuzucu Ç, Baktır E, Acar N. Antibiotic susceptibilities of salmonella and shigella strains isolated between 1998-1999. *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology*, 2001; 58(1): 11-14.
14. Alamanos Y, Maipa V, Levidiotou S, Gessouli E. A community waterborne outbreak of gastro-enteritis attributed to Shigella sonnei. *Epidemiol Infect*, 2000; 12: 499-503.
15. Levy DA, Bens MS, Craun GF, Calderon RL. Surveillance for waterborne-disease outbreaks -United States, 1995-1996. *MMWR CDC Surveill Summ*, 1998; 47: 1-34.
16. Black RE, Craun GF, Blake PA. Epidemiology of common-source outbreaks of shigellosis in the United States, 1961-1975. *Am J Epidemiol*, 1978; 108: 47-52.
17. Arnell B, Bennett J, Chehey R, Greenblatt J. Shigella sonnei outbreak associated with contaminated drinking water--Island Park, Idaho, August 1995. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 1996; 45: 229-231.
18. Lampel KA, Shigella species. In: Lampel KA., Khalidi SA, Cahill SM, (eds.). *Bad Bug Book. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. Vol.2. 2012;22-25*. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/food/foodsafety/foodborneillness/foodborneillnessfoodborne-pathogensnaturaltoxins/badbugbook/ucm297627.pdf>, [Cited at: 24.09.2018 ].
19. World Health Organization. *Guidelines for Drinking-Water Quality Incorporating 1st and 2nd Addenda, vol.1, Recommendations 3rd edition, volume 2, Health Criteria and other Supporting Information. WHO 2008*. Available from: URL: [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/fulltext.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/fulltext.pdf), [Cited at: 24.09.2018].
20. Akın L. Control of Water and Foodborne Diseases. In: Güler Ç, Akın L, (eds.). *Public Health Basic Information. Volume 3, 2nd Edition. Hacettepe University*, 2012; 1388-1403.
21. Maurer AM, Sturchler D. A waterborne outbreak of small round structured virus, campylobacter and shigella co-infections in la Neuveville, Switzerland, 1998. *Epidemiol Infect*, 2000; 12: 325-332.
22. Egoz N, Shmilovitz M, Kretzer B, Lucian M, Porat V, Raz R. An outbreak of shigella sonnei infection due to contamination of a municipal water supply in northern Israel. *J Infect*, 1991; 22(1): 87-93.
23. Alcoba-Flórez J, Pérez-Roth E, González-Linares S, Méndez-Alvarez S. Outbreak of shigella sonnei in a rural hotel in la Gomera, Canary Islands, Spain. *Int Microbiol Off J Span Soc Microbiol*, 2005; 8(2): 133-136.
24. Yalçın AN, Turhan Ö. Evaluation of patients with acute diarrhea. *J Int Med*, 2004; 11 (4): 182-193.
25. Safe Drinking Water Foundation. *Source Water Protection. Source Water Protection Fact Sheet*. at <https://www.safewater.org/fact-sheets-1/2017/1/23/source-water-protection>, / Access date: 24.09.2018).
26. WHO. *Optimizing regulatory frameworks for safe and clean drinking-water*. Available from: [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/sheet4.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/sheet4.pdf), (Access date: 24.09.2018).
27. Samonis G, Elting L, Skoulika E, Maraki S, Tselentis Y. An outbreak of diarrhoeal disease attributed to shigella sonnei. *Epidemiol Infect*, 1994; 112: 235-45.

## Determination of usage frequency of household type water purifiers and effects on drinking water quality in Meram

### Meram ilçesinde ev tipi su arıtma cihazlarının kullanım sıklığının belirlenmesi ve içme suyu kalitesine etkisi

Yusuf Kenan BOYRAZ<sup>1</sup>, Lütfi Saltuk DEMİR<sup>1</sup>, Kübra EKEN<sup>1</sup>, Muhammet Fatih TABARA<sup>1</sup>, Reyhan EVCİ<sup>1</sup>, Yasemin DURDURAN<sup>1</sup>, Mehmet UYAR<sup>1</sup>, Tahir Kemal ŞAHİN<sup>1</sup>

#### ABSTRACT

**Objective:** In this study, it is aimed to determine usage frequency of household type water purifiers in Meram and their effects on microbiological and chemical quality of water.

**Methods:** This cross-sectional study was conducted in Meram of Konya province between the dates of 01 April - 01 June 2016. As the usage prevalence of household type water purifiers in Meram was not known, it was assumed as 50% with G-Power 3.1.9.2 software; sample size was calculated as 810 houses with 95% confidence interval ( $\alpha=0.05$ ), 7% derivation, 80% power and design effect as 2. 810 houses were selected which were sampled from the neighborhoods of Meram. A questionnaire was applied to the participants who agree to participate, by face to face interview. Water samples were taken from homes which were accesible, for microbiological and chemical analysis from the water network system and the household water purifier. Microbiological analysis was performed by membrane filtration method in Konya public health laboratory. Chemical analyses (pH, conductivity, free chlorine, ammonium, nitrite, fluoride, calcium, magnesium and total hardness) were carried out by the Hach Lange DR

#### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmada, ev tipi su arıtma cihazlarının Meram ilçesinde kullanım sıklığının tespit edilmesi ve bu cihazların içme suyunun mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesine etkisinin saptanması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Kesitsel tipteki bu çalışma; 01 Nisan - 01 Haziran 2016 tarihleri arasında, Konya ili Meram ilçesinde yapılmıştır. Örneklem büyüklüğü G-Power 3.1.9.2 bilgisayar programı ile Meram ilçesinde ev tipi su arıtma cihazlarının kullanım prevalansı bilinmediğinden %50 alınarak %95 güven aralığında ( $\alpha=0,05$ ), %7 sapma, %80 güç ve desen etkisi iki olacak şekilde 810 haneye ulaşılmıştır. Meram ilçesindeki mahallelerden örnekleme seçilen 810 haneye ulaşılmıştır. Çalışmaya katılmayı kabul eden katılımcılara, yüz yüze görüşme yöntemiyle anket uygulanmıştır. Ev tipi arıtma cihazı kullanılan ve analiz için ulaşılabilen hanelerin şebeke sisteminden ve arıtma cihazlarından, mikrobiyolojik ve kimyasal analiz için su örnekleri alınmıştır. Mikrobiyolojik analizler membran süzme yöntemiyle Konya Halk Sağlığı Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Kimyasal analizler olarak pH, iletkenlik, serbest klor, amonyum, nitrit, florür, kalsiyum, magnezyum ve toplam sertlik analizlerini Hach Lange DR 3900 UV

<sup>1</sup>Necmettin Erbakan University, Meram Medicine Faculty, Department of Public Health, Konya



İletişim / Corresponding Author : Lütfi Saltuk DEMİR

Meram Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD Dekanlık Morfoloji Binası Kat: 1 Meram - Konya - Türkiye  
Tel : +90 507 328 70 11 E-posta / E-mail : lutfi.demir@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 24.01.2018  
Kabul Tarihi / Accepted : 22.09.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.90197

Boyraz YK, Demir LS, Eken K, Tabara MF, Evcı R, Durduran Y, Uyar M, Şahin TK. Determination of usage frequency of household type water purifiers and effects on drinking water quality in Meram. Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(2): 149-156

3900 UV spectrophotometer and the Hach Lange HQ40D pH-conductivity instrument at Meram Medical Faculty Public Health Department.

**Results:** It is found that water purifiers are used in 67 out of 810 households (8,3%) that were interviewed. None of the samples taken from tap water before household type water purifiers were shown total coliform bacteria growth. In one sample taken from treated water thorough purifiers, 9 kob/100 mL total coliform growth was observed (2.5%). In analyses of free chlorine, pH, conductivity, fluoride, calcium, magnesium and total hardness, all parameters were confirmed to be significantly lower in treated water compared to municipal water, while in analysis of nitrite no significant difference was observed. Also, ammonium in samples was not detected.

**Conclusion:** Household type water purifiers were found not to be a healthy and high quality preference for drinking water, as a result of both hygienic risks and the fact that they significantly decrease water hardness and amounts of salubrious minerals like fluoride, calcium and magnesium in municipal water. Despite regular maintenance when good hygiene can not be provided they may cause the problem of public health in microbiological terms.

**Key Words:** Water purification, drinking water quality, consumer preference

spektrofotometresinde ve Hach Lange HQ40D pH-iletkenlik cihazında, Meram Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı'nda analiz edilmiştir.

**Bulgular:** Görüşülen 810 hanenin 67'sinde (%8.3) su arıtıcılarının kullanıldığı tespit edilmiştir. Ev tipi su arıtma cihazlarının öncesinde musluk suyundan alınan örneklerin hiçbirinde toplam koliform bakteri üremesi görülmemiştir. Arıtılmış sudan alınan bir örnekte ise 9 kob/100 mL toplam koliform bakteri üremesi gözlemlenmiştir (%2,5). Serbest klor, pH, iletkenlik, florür, kalsiyum, magnezyum ve toplam sertlik analizleri şebeke suyuna kıyasla arıtılmış suda önemli ölçüde düşük olduğu tespit edilmiş; nitrit analizinde ise önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Su örneklerinin hiç birisinde amonyum belirlenmemiştir.

**Sonuç:** Ev tipi su arıtma cihazlarının hem hijyenik açıdan hem de sağlık için faydalı olan florür, kalsiyum, magnezyum mineralleri ile suyun toplam sertliğini önemli ölçüde azaltmasından dolayı sağlıklı ve kaliteli bir içme suyu tercihi olarak bulunmamıştır. Düzenli bakım yapılmasına rağmen iyi hijyen sağlanamadığı durumlarda ev tipi su arıtma cihazları mikrobiyolojik açıdan halk sağlığı sorunu ortaya çıkmasına sebep olabilirler.

**Anahtar Kelimeler:** Su arıtma, içme suyu kalitesi, tüketici tercihi

## INTRODUCTION

Water is essential for survival. Every person should be able to access sufficient and safe water resources (1). Access to water and sanitation are indispensable factors for maximizing health status (2). Water requirement may change by age, gender, body weight or physical activity level. European Food Safety Authority (EFSA) has set the daily water consumption requirement as two litres for women and two and a half litres for men (3, 4).

In terms of health, cleanliness of water is also as important as its quantity. Clean and healthy

water is the kind that not harbouring disease-causing microorganisms and toxic chemicals as well as including required minerals in balanced ratios. Basic factors for determining water quality are ambient temperature, amount of dissolved oxygen, pH, mineral ingredients and organic/inorganic contaminants (5).

All over the world many activities are being undertaken for ensuring access to healthy and high quality drinking water. Although investments on municipal water systems have been increased,

problems faced during providing municipal water services create worries about cleanliness and safety of municipal water. Negative news about municipal water as well as advertisements about packaged water and water purifiers reinforce negative perceptions (6). In places where municipal water distribution system or municipal water quality is thought to be insufficient, a great majority of the households consume packaged water. For the same reasons, number of families that own water purifiers increase with every passing day (7-9).

Household type water purifiers have many types that use different methods such as mechanical filtration systems, softeners, anionic exchangers, ultraviolet disinfectors, reverse osmosis systems, ozonisers, chlorinators etc. It should not be forgotten about all these systems that no one treatment system can pose a solution for all water quality problems, and all systems has their own limitations and system lifecycles as well as a need for regular maintenance and monitoring. Water treatment systems should be chosen for the characteristics of the water that would be treated (10).

In conducted studies, it is suggested that household type water purifiers cause coliform growth and are also decreasing water hardness and mineral levels such as calcium, magnesium or fluoride (11, 12). Therefore, monitoring of drinking water quality from source to point-of-use is essential to ensure compliance with quality standards and to protect public health (13).

In this study, it is aimed to determine usage frequency of household type water purifiers in Meram and their effects on microbiological and chemical quality of water.

## MATERIAL and METHOD

This cross-sectional study was conducted in Meram district of Konya province between the dates of 01st April - 01st June 2016. As the usage prevalence of household type water purifiers in Meram district

was not known, it was assumed as 50% with G-Power 3.1.9.2 software; sample size was calculated as 810 houses with 95% confidence interval ( $\alpha=0.05$ ), 7% deviation, 80% power and pattern effect as 2 (14). 115 neighbourhoods in Meram was assumed as a cluster and 27 neighbourhoods selected into the cluster with simple random sampling. From each neighbourhood that selected into the cluster, 30 houses were added into the sample and therefore it reached to the total of 810 houses, with simple random sampling method, using the Municipal Information System of Konya Metropolitan Municipality. Households in the next door number have been included in the sampling when they refuse to participate in the study and are not available in the address. Using face-to-face interview method, a poll which had been prepared by the researchers, was conducted to every participant that gave verbal consent to partake in the study. No samples can be taken from a total of 28 household type water purifiers: 15 owners did not give permission for taking samples, nine owners could not be reached out at home, three owners have removed the devices and one owner was moved out. All 39 devices had reverse osmosis systems. Two separate samples from each of 39 houses were taken, one from tap water prior to go through purifier and one from water treated in the purifier. In sample-taking process, firstly taps were wiped with alcohol swabs, then water was moderately flushed for 2-3 minutes, then taps were closed and scorched with fire, then water was moderately flushed again for 2-3 minutes and finally the samples were taken into sample container. Water samples were taken into 500 mL sterilized sample containers for microbiological analysis and into 500 mL sample container for chemical analysis. Water samples were delivered through cold chain to Konya Public Health Laboratory for microbiological analysis and microbiological analysis was performed by membrane filtration. Chemically, analyses for pH, conductivity, free chlorine, ammonium, nitrite, fluoride, calcium, magnesium and total water hardness were conducted with Hach Lange DR 3900 UV spectrophotometer and

Hach Lange HQ40D pH-conductivity device in Public Health Department of Meram Medical Faculty. Free chlorine analyses were made with Hach Lange DR 3900 UV spectrophotometer at houses right after the samples were taken. Measurement range of chemical parameters: ammonium 0.015-2.0 mg/L, nitrite 0.002-0.300 mg/L, fluoride 0.1-2.5 mg/L, water hardness 1.78-35.6 °f, magnesium 3.0-50.0 mg/L, calcium 5.0-100.0 mg/L, free chlorine 0.02-2.0 mg/L, pH 2-14, conductivity 0.01  $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$  - 200  $\text{mS}/\text{cm}^{-1}$ . Values below measurement range in the spectrophotometer are assumed to be zero. Computerized data analyses were made with SPSS 24.0 packaged software. The descriptive data are given in median, interquartile range, number, percentage. The normality analyses of the data were tested with graphical and Shapiro-Wilk method. Wilcoxon signed rank test was used because the data were not normally distributed. The Chi-square test was used to compare proportions in different groups. For statistical significance,  $p < 0.05$  value was assumed. For the study to be conducted, a project was submitted to Necmettin Erbakan University Meram Medical Faculty Ethical Board for Non-Medicinal Researches and Researches without Medical Devices and an approval was obtained (Date: 18.12.2015 Number: 2015/384). The research funding was provided by Necmettin Erbakan University Scientific Research Projects Coordination Unit (Project No: 161518004).

## RESULTS

It found that water purifiers are being used in 67 out of 810 households (8.3%) that were interviewed. Out of 67 participants who prefer household type water treatment, it is found that 39 (58.2%) think of tap water as dirty, 30 (44.8%) do not enjoy the taste of municipal water, 17 (25.4%) think of tap water as calcareous. 367 of the participants (45.3%) were found to have an income below 2000 TL. When compared income level with purifier usage, water treatment usage ratio was found to be significantly

higher in participants with an income 2000 TL and over (13.1%), than participants with an income below 2000 TL (2.5%) ( $p=0.001$ ).

Usage period median for household type water purifiers is found to be 48 months (36-84 months). 14 of the participants who use household type water purifiers (21.9%) have been using those devices between 0-24 months, 28 of them (43.7%) have been using those devices between 25-50 months, 22 of them (34.6%) have been using those devices for 61 or more months. 59 of the participants who use household type water purifiers (90.8%) stated that they carry out maintenance for their devices; 32 of whom (49.2%) for every six months and 24 of whom (36.9%) for every year. Last maintenance for household type water purifiers was determined to be done 6 months ago (2-10 months). None of the samples taken from tap water before household type water purifiers were shown total coliform bacteria (0 kob/100 mL) growth. In one sample taken from treated water thorough purifiers, total coliform bacteria (9 kob/100 mL) growth was observed (2.5%). Total coliform bacteria growth was observed in a device that was told to be maintained.

In analyses of free chlorine, pH, conductivity, fluoride, calcium, magnesium and total hardness, all parameters were confirmed to be significantly lower in treated water compared to municipal water, while in analysis of nitrite no significant difference was observed (Table 1). Also, ammonium in samples was not detected.

## DISCUSSION

Water is one of the essential elements for vital activities to be realized in every period of human life. In this respect, existence and quality of water in habitats is extremely important. Water is needed to be distributed sufficiently, cleanly, healthily and safely with water supply systems (15). In some studies, it was carried out in several provinces in Turkey, usage ratios were found to be varied between 31.7-44.9%



**Tablo 1.** Comparison of physical and chemical analyses between treated water samples from household type purifiers and tap water samples - Meram/Konya, 2016

	Tap Water Median (25.-75. per)	Treated Water Median (25.-75. per)	p Value
pH	7.71 (7.49 - 7.85)	6.59 (6.37 - 6.87)	0.001
Conductivity ( $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ )	436.00 (405.00 - 671.00)	52.40 (38.00 - 67.00)	0.001
Free Chlorine (mg/L)	0.58 (0.43 - 0.69)	0.02 (0.01 - 0.03)	0.001
Fluoride (mg/L)	0.157 (0.00 - 0.321)	0.00 (0.00 - 0.00)	0.001
Calcium (mg/L)	53.00 (42.60 - 71.40)	1.20 (0.00 - 3.75)	0.001
Magnesium (mg/L)	27.1 (22.30 - 47.40)	6.59 (3.02 - 10.70)	0.001
Total Hardness ( $^{\circ}\text{f}$ )*	24.03 (20.64 - 38.98)	2.79 (1.79 - 4.71)	0.001
Nitrite (mg/L)	0.003 (0.002 - 0.003)	0.002 (0.000 - 0.003)	0.068

\*Total hardness degree ( $^{\circ}\text{f}$ ): Calculated in French hardness degree

for tap water, between 13-54% for packaged water, between 6.3-25% for household type water purifiers, between 2.0-27.1% for spring water (6, 9, 15-17). In a study conducted in Iran, it is found that 12.8% of people prefer to use household type water purifiers (18). In this study, prevalence of household type water purifiers was 8.3%.

Many studies were conducted on factors that affect preferences about drinking water consumption. In these studies, many factors were found to affect drinking water preferences of individuals, such as personal ideas on health, habits, residential situation, socio-demographical factors (age, gender, income level, educational level etc.), quality parameters about tap water (taste, odour, mineral levels, pollution etc.), accessibility of drinking water sources and advertisements about packaged water and water treatments devices (7, 19-24). In a study carried out in Iran, participants who use household type water purifiers stated that they prefer to use these devices

because of good taste, easy access, affordability and fewer side effects on health (18). In our study, it was determined that consumer had preferred household type water purifiers because of disliking the taste of municipal water and finding it to be polluted and/or calcareous. Effects of water-borne contaminants on human health can vary from gastroenteritis to serious diseases such as lethal diarrhoea, dysentery, hepatitis and typhoid fever (1). When it comes to studies on microbiological quality of treated water through household type water purifiers, in a study conducted in Ankara, microbiological samples were taken from 16 devices and coliform bacteria growth was identified in 62.5% of them (12). In a study conducted in Germany, in 24 out of 34 purifiers (70.5%) bacteria growth was observed (25). As for this study, in 1 out of 39 purifiers (2.5%) total coliform growth was observed, although its maintenance had been done timely. No growth was observed in samples taken from municipal water. Although less coliform

growth was observed in samples taken from devices compared with similar studies, even this constitutes an important hygiene and public health problem. Also the fact that less devices has shown total coliform growth in this study can be attributed to maintenance of most of the devices being done in a timely manner.

In terms of pH, nearly all purifiers were observed to decrease pH of tap water that they were connected with and pH values of one-third of the samples were even below 6.5. The pH value is suggested as 6.5-9.5 in legislation on water for human consumption (26). World Health Organization that there is no direct correlation between pH value of drinking water and human health. But it also points out that pH values affect disinfection efficiency, and low pH increases metal corrosion; therefore, pH values indirectly affect human health (27). On grounds of pH values of tap waters being observed as normal, local administrations who have the duty of providing healthy drinking water should occasionally utter the need of preferring municipal water for healthy life.

Free chlorine amount in tap water samples used in this study was 0.58 mg/L, while free chlorine amount in samples taken from treated water was 0.02 mg/L. Arranging proper chlorine level and chlorination would decrease the discomfort about taste and odour. Low level of chlorine in treated water can also lead to negative results in cases of potential device-based microbiological contamination. Failing to carry out maintenance of purifiers in a timely manner would increase the risk of microbiological contamination and as a result low level of free chlorine would cause a public health problem.

Fluoride amount in foods is low; therefore, its main source is water. Preferred fluoride value in drinking water is around 0.5-1.0 mg/L. Fluoride level below 0.5 mg/L leads to easier teeth decay, while fluoride level above 1.5 mg/L may cause teeth stains called fluorosis (28). In many studies conducted in Turkey on determining fluoride levels, fluoride concentrations found to be lower than 1.0

mg/L (29), while in a study carried out in Isparta fluoride value was 1.66 mg/L (28). In a study carried out in Konya, samples were taken from 50 different locations and 92% of the samples were found to have fluoride amounts around 0.15-0.30 mg/L (29). In a study made in Iran, it was shown that household type water purifiers completely filter fluoride in municipal water (11). Similarly, in this study, fluoride amount in samples taken from municipal water was found to be lower than preferred fluoride level with 0.157 mg/L, while the purifiers found to be completely filtering the fluoride in municipal water. As a result, usage of purifiers is thought to create risks on dental health.

Water hardness is a term for defining the number of ions and the amount of sulphate and carbonate salts of especially calcium and magnesium in water. Hard water contains minerals that needed to be taken daily, especially calcium and magnesium (30). Calcium and magnesium ions that abound in water can easily be absorbed in stomach and intestinal system (28). Magnesium taken from water can be more rapidly absorbed than food-based magnesium (31). It is stated that 700-1000 mg of calcium and 300-400 mg of magnesium is needed to be taken daily (32). There are many studies that state hard water is preventive against deaths from diseases like colon, rectum, pancreas, liver, breast and ovary cancer, as well as cerebrovascular and cardiovascular diseases (30, 32). In the water samples taken from different locations as a part of the study conducted in Isparta, Ca<sup>2+</sup> levels varied between 51.24-92.15 mg/L, Mg<sup>2+</sup> levels varied between 4.25-28.24 mg/L and total hardness values varied between 16.2-34.2 °f (28). In our study, calcium amount was 53.00 mg/L and magnesium amount was 27.10 mg/L in municipal water; while in the samples taken from household type water purifiers, calcium amount was 1.20 mg/L and magnesium amount was 6.59 mg/L. Water hardness was 24.03 °f in municipal water and 2.79 °f in samples taken from household type water purifiers. In a study carried out in Iran, it was also shown that these devices decrease amounts of calcium

and magnesium in municipal water (11). Water hardness is an aesthetic parameter about palatal delight. Obviating the hardness of water provided by municipalities through purifiers in households and preference of packaged soft water as drinking water in societies that are accustomed to the taste of soft water, means to be deprived of the benefits of hard water, in terms of public health (30).

To conclude, household type water purifiers were found not to be a healthy and high quality preference

for drinking water, as a result of both hygienic risks and the fact that they significantly decrease water hardness and amounts of salubrious minerals like fluoride, calcium and magnesium in municipal water. Despite regular maintenance when good hygiene cannot be provided they may cause the problem of public health in microbiological terms. The limitation of our research is only questioning the income situation as a socio-economic variable.

### ACKNOWLEDGMENT

We would like to thank Necmettin Erbakan University Coordinator of Scientific Research Projects who financed this work.

### REFERENCES

1. Anonymous. Guidelines For Drinking Water Quality. 4th edition. Geneva: World Health Organization. 2011.
2. Clasen T. Water and Sanitation. In: Detels R, Gulliford M, Abdool Karim Q, Tan CC, eds. Oxford Textbook of Global Public Health. 6th edition. Oxford: Oxford University, 2015: 163-79.
3. Anonymous. EFSA panel on dietetic products, nutrition, and allergies, scientific opinion on dietary reference values for water. EFSA J, 2010; 8(3): 1459.
4. Anonymous. Dietary Guidelines For Turkey, TUBER 2015. vol. 1031. Ankara: The Ministry of Health of Turkey. 2016.
5. Anonymous. Çok Paydaşlı Sağlık Sorumluluğunu Geliştirme Programı 2013-2023. In: Fiziksel Çevrenin Geliştirilmesi. Birinci baskı. T.C. Sağlık Bakanlığı. Ankara: Anıl Matbaacılık Ltd. Şti. 2014.
6. Til A, Topaloğlu S, Zencir M. Denizli ili çalışan nüfusun içme suyu tercihleri ve etkileyen faktörler. Uluslararası Katılımlı Ulusal Su ve Sağlık Kongresi. 26-30 Ekim, Antalya-Türkiye. 2015.
7. Doria MF. Bottled water versus tap water: understanding consumers preferences. J Water and Health, 2006; 4(2): 271-6.
8. Garcia ACE, Avalos CD, Villarreal FJG, Segura RV, Orozco VM, Hiriart MM. Drinking water quality in a Mexico City University Community: perception and preferences. Eco Health, 2015; (12): 88-97.
9. Uzundumlu AS, Fakioğlu Ö, Köktürk M, Temel T. Determining of the best drinking water preference in Erzurum Province. Alınteri, 2016; 30(B): 1-7.
10. Anonymous. Hygienic laboratory the university of Iowa. Well water quality and home treatment systems. Iowa, 1999.
11. Ashkavandi ZJ, Kheirmand M. Effect of home used water purifier on fluoride concentration of drinking water in Southern Iran. Dent Res J (Isfahan), 2013; 10(4): 489-92.
12. Kürklü S, Çınar M, Oğur R, Tekbaş ÖF. Ev tipi su arıtma cihazlarının suyun mikrobiyolojik kalitesine etkisinin araştırılması. Uluslararası Katılımlı Ulusal Su ve Sağlık Kongresi. 26-30 Ekim, Antalya-Türkiye. 2015.

13. Farhadkhani M, Nikaeen M, Akbari Adergani B, Hatamzadeh M, Nabavi BF, Hassanzadeh A. Assessment of drinking water quality from bottled water coolers. *Iranian J Publ Health*, 2014; 43(5): 674-81.
14. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A, Power G. A flexible statistical poweranalysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods*, 2007; 39: 175-91.
15. Ekmekçi Bal Z. A study on consumers' packed water consumption in the central district of Tokat. M Sc Thesis. Gaziosmanpaşa University Institute of Science. 2014.
16. Çalık E, Mentş Y, Karadağ F, Dayıoğlu H. İçme suyunun sağlık açısından değerlendirilmesi. *DPÜ Fen Bil Enst Derg*, 2004; 6: 17-26.
17. Ufacık A, Topbaş M, Çankaya S, Nas SS, Sağdıç T, Ortahisar E. Trabzon şehir merkezinde yaşıyanların içme, kullanma suyu tercihleri ve nedenleri. Uluslararası Katılımlı Ulusal Su ve Sağlık Kongresi. 26-30 Ekim, Antalya. 2015.
18. Sajjadi SA, Alipour V, Matlabi M, Biglari H. Consumer perception and preference of drinking water sources. *Electronic Physicia*, 2016; 8(11): 3228-33.
19. Ward LA, Cain OL, Mullally RA, Holliday KS, Wernham AGH, Baillie PD, et al. Health beliefs about bottled water: a qualitative study. *BMC Public Health*, 2009; 9: 196.
20. Chenoweth J, Barnett J, Capelos T, Schaw CF, Kelay T. Comparison of consumer attitudes between Cyprus and Latvia: an evaluation of effect of setting on consumer preferences in the water industry. *Water Resour Manage*, 2010; 24: 4339-58.
21. Teillet E, Urbano C, Cordelle S, Schlich P. Consumer perception and preference of bottled and tap water. *J Sens Stud*, 2010; 25: 463-80.
22. Durga, M. Consumers' buying behavior of bottled water in Suriname. <http://www.fhrinstitute.org/mod/data/view.php?d=1&rid=49>, (Accessed: 05.01.2017).
23. Ogbuji CN, Anyanwu AV, Onah JO. An empirical study of the impact of branding on consumer choice for regulated bottled water in Southeast Nigeria. *Int J Bus Manag*, 2011; 6 (6): 150-66.
24. Chen H, Zhang Y, Ma L, Liu F, Zheng W, Shen Q, et al. Change of water consumption and its potential influential factors in Shanghai: a cross-sectional study. *BMC Public Health*, 2012; 12: 450.
25. Daschner FD, Rűden H, Simon R, Clotten J. Microbiological contamination of drinking water in a commercial household water filter system. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1996; 15: 233-7.
26. Anonymous. Regulation Concerning Water Intended for Human Consumption. Ankara: Republic of Turkey Ministry of Health. 2005.
27. Anonymous. pH in drinking-water. Geneva: World Health Organization. 2007.
28. Şavik E, Demer S, Memiş Ü, Doguç DK, Çalışkan TA, Sezer MT. Evaluation of drinking water consumed in and around Isparta in terms of content and health. *SDU J Med Fac*, 2012; 19(3): 92-102.
29. Dursun Ş, Karataş M, Öztürk E. Determination of the fluoride levels in drinking water of well in the City Konya Centre. *SU Sci Art J Fac Sci*, 2005; 26: 63-70.
30. Koçak N, Güleç M, Tekbaş ÖF. Suyun sertlik derecesi ve sağlık etkileri. *TAF Prev Med Bull*, 2011; 10(2): 187-92.
31. Durlach J. Recommended dietary amounts of magnesium: Mg RDA. *Magnesium Res*, 1989; 2: 195-203.
32. Kozisek F. Nutrients in Drinking Water. In: Health risks from drinking demineralised water. Chapter 12. Geneva: World Health Organization. 2005; 148-63.

## Normal values of biochemical parameters in serum of New Zealand White Rabbits

### Yeni Zelanda Beyaz Tavşanlarında serum biyokimyasal parametrelerinin normal değerleri

Özcan ÖZKAN<sup>1</sup>, Selçuk PEKKAYA<sup>2</sup>

#### ABSTRACT

**Objective:** Laboratory animals, which are an organ complex, are used as model for human in biomedical studies. For this reason, information about the normal physiological values of laboratory animals provide important information on their health status. In this study, it is aimed to determine the serum normal biochemical values of New Zealand rabbits.

**Methods:** Blood was taken from the ears of 93 rabbits. Biochemical tests were performed on serum samples. For analyses, commercial diagnostic kits were used for determination of biochemical parameters. Statistically, the difference between the mean values of the variables according to male and female rabbit was analyzed by independent sample t-test.

**Results:** Albumin, protein, CK (creatin kinase) and LDH (lactate dehydrogenase) ( $p < 0.05$ ) values were found statistically significant between male and female rabbits. On the other hand, creatinine, cholesterol and Mg values ( $p < 0.05$ ) increased significantly in female rabbits.

**Conclusion:** Biochemical tests should be conducted at regular intervals to assess the health status of animals. Since many variables are linked, the animals

#### ÖZET

**Amaç:** Bir organ kompleksi olan laboratuvar hayvanları biyomedikal çalışmalarda insanlar için model olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle, laboratuvar hayvanlarının normal fizyolojik değerleri, sağlık durumlarıyla ilgili önemli bilgiler sağlar. Bu çalışmada da Yeni Zelanda tavşanlarının serum normal biyokimyasal değerlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Toplam 93 (60♂; 33♀) tavşanın kulaklarından kan alındı. Serum örneklerinde biyokimyasal testler yapıldı. Analizler için biyokimyasal parametrelerin belirlenmesinde ticari teşhis kitleri kullanıldı. İstatistiksel olarak, erkek ve dişi tavşana göre değişkenlerin ortalama değerleri arasındaki fark bağımsız sample t-testi ile analiz edildi.

**Bulgular:** Erkek tavşanların albümin, protein, CK (keratin kinaz) ve LDH (laktat dehidrogenaz) ( $p < 0.05$ ) değerleri dişi tavşanlara göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Öte yandan dişi tavşanlarda kreatinin, kolesterol ve Mg değerleri ( $p < 0.05$ ) önemli derecede yüksek bulunmuştur.

**Sonuç:** Hayvanların sağlık durumlarının değerlendirilmesi için düzenli aralıklarla biyokimyasal testler yapılmalıdır. Birçok değişkene bağlı olduğundan

<sup>1</sup>Çankırı Karatekin University, Faculty of Science, Department of Biology, Çankırı

<sup>2</sup>Ankara University, Faculty of Veterinary, Medicine Department of Microbiology, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Özcan ÖZKAN

Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü 18000 Çankırı - Türkiye  
Tel : +90 539 636 10 71 E-posta / E-mail : ozcanozkan@karatekin.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 21.02.2018  
Kabul Tarihi / Accepted : 26.06.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.53254

Özkan Ö, Pekkaya S. Normal values of biochemical parameters in serum of New Zealand White Rabbits.  
Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(2): 157-162

used in the research should be based on the values of the control group on the same conditions.

**Key Words:** Rabbit, New Zealand white, serum, biochemical parameters

araştırmalarda kullanılan hayvanlarda aynı koşullardaki kontrol grubunun değerleri temel alınmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Tavřan, Yeni Zelanda beyaz, serum, biyokimyasal parametreler

## INTRODUCTION

In currently, laboratory animals are still considered to be necessary, when there are no alternatives, laboratory animals are used widely in biomedical sciences and the production of antibodies and vaccine and sera quality control tests (1-3). Therefore in vitro models that can completely mimic the complexity of the human organism are still not available today. The New Zealand white rabbit is one of the most popular laboratory animals in the world because of their relatively large size and docile. In addition, using rabbits as experimental models, there are some advantages such as easy to handle and observe, large number of individuals, and short biologic cycles, ability to adapt to environmental conditions, and genetic standardization. The animal is widely used as a model for in vivo studies including in biomedical studies, surgery, atherosclerosis research, antibody production, pyrogen tests and eye studies (4-8).

At this stage, physiological biochemical values in serum provide valuable information on objective evaluation of health status in rabbits, in order to detect health failures or for monitoring stress factors already at a preclinical phase (9-12). In rabbit breeding, changes in biochemical parameters can be used as indicators of welfare status. Reference values of biochemical parameters provide important information for clinicians during diseases. The aim of the present study was to determine the normal biochemical values in serum in both male and female New Zealand white rabbits.

## MATERIAL and METHOD

### Material

#### Animals

In total, 93 rabbits (♀:33, ♂:60) were used for serum biochemical analysis. The samples were taken from weighing 1.5 to 3 kg New Zealand white rabbits. The animals were housed in single rabbit cages in suitable environmental conditions (22±2°C, 12-h light, and dark cycles). The animals were given ad libitum commercial pelleted food and drinking tap water.

#### Method

##### Collection of Blood Samples

The blood samples were collected by marginal ear vein puncture. The sample for biochemical analysis was collected in sterile plain tubes. Blood samples were centrifuged at 3000 rpm for 10 min. And serums were kept at -20°C until use.

##### Analysis of Biochemical Parameters

For biochemical analyses, commercial diagnostic kits (Quimica Clinica Aplicada) were used for determination of biochemical parameters such as glucose, total proteins, albumin, alanine aminotransferase (ALT), aspartate amino transferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), gamma-glutamyl transferase (GGT), lactate dehydrogenase (LDH), alkaline phosphatase (ALP), blood urea nitrogen (BUN), uric acid, creatinine, creatin kinase (CK), triglyceride, cholesterol, total bilirubin (TB), calcium (Ca), phosphorus (P), magnesium (Mg) were measured on full automated biochemistry analyzer (BT 3000 plus).

### Statistical analysis

The descriptive statistics for the variables are given by mean, standard error of means, and standard deviation. The difference between the mean values of the variables according to in males and females were analyzed by independent sample t test. In all statistical analyzes, alpha=0,05 ( $p < 0,05$ ) was taken as significant. Statistical analyzes were performed in SPSS V.22 statistical package program.

### RESULTS

Blood samples were taken from 93 rabbits (♂:33,

♂:60). According to gender, the all biochemical parameters were presented in Table 1 including arithmetic means and standard error of means. And statistical difference results, between male and female animals also are shown in Tables 1.

In male serum biochemical parameters; albümin, protein, CK, and LDH ( $p < 0.05$ ) values increased significantly when compared with the female biochemical values. However, creatinine, cholesterol and Mg values ( $p < 0.05$ ) increased significantly in female rabbits (Table 1). There was no statistically significant difference for other serum biochemical parameters between male and female animals.

**Table 1.** Normal biochemical values in New Zealand rabbit serum

PARAMETERS	MALE (n=60)		FEMALE (n=33)	
	Mean	SEM	Mean	SEM
Albumin (g/L)	48.66	0.77	44.93	0.56
AST (U/L)	33.27	2.78	32.82	2.81
Protein (g/L)	71.37	0.83	68.48	1.15
ALP (U/L)	98.98*	10.79	111.55	17.05
ALT (U/L)	28.18	3.32	27.85	3.05
GGT (U/L)	9.750	0.35	10.47	1.16
BUN (mg/dL)	41.28	1.74	37.52	1.54
Creatinine (mg/dL)	1.00*	0.05	2.23	0.52
Ca (mg/dL)	13.19	0.07	11.59	0.80
CK (U/L)	570.12*	48.21	413.97	35.87
LDH (U/L)	385.20*	21.84	304.55	22.25
TB (mg/dL)	0.28	0.02	0.22	0.02
Mg (mg/dL)	2.43	0.12	2.91	0.11
P (mg/dL)	4.68*	0.14	4.57	0.28
Cholesterol (mmol/L)	37.35*	2.21	59.61	5.094
Uric Acid (mg/dL)	0.48	0.04	0.48	0.05
Triglyceride (mg/dL)	91.67	6.77	105.76	10.43
Glucose (mg/dL)	116.35	4.29	129.00	7.91

\*:statistical difference is indicated as  $p < 0.05$

SEM : Standard error of means

## DISCUSSION

Numerous studies reported that blood biochemistry parameters can be shown differences in the animal as well as laboratory animals. There are some factors related to the animals (age, species, strain, and sex), environmental conditions, bleeding, sampling procedures, and analysis method (5, 11-13). In addition, the factors can affect serum biochemical values. In our present study was carried out to determine the normal or reference biochemical values in serum samples in the rabbits.

Serum biochemical analysis can play an important role in accurate diagnosis of renal diseases, therefore, some biochemical markers such as creatinine, urea, uric acid and electrolytes levels in serum give knowledge for kidney function (9). In our study, rabbit serum creatinine and BUN levels were determined higher than previous studies (7, 11, 14, 16). There was a statistically significant difference in the serum biochemical parameters between male and female animals. The previous studies were reported differences in glucose levels that serum glucose levels in live animals can be affected because of different factors such as blood collection procedure environmental conditions and stress. In this parallel, the glucose level results of our study were similar to those of the previous studies (11, 15, 16), while the glucose result was lower than another study (17). Total protein level results were similar to our results (11, 15, 16), and higher than another study (14), while the parameters were reported parallel with our results.

Serum biochemical parameters also an important indicator for valuable information about functions of the liver, the kidney, and heart. ALT is an enzyme specific to liver and is a symptom of liver damage. But in rabbits the heart rate contains a high amount of

ALT. Therefore also it used as a marker of damage to the heart muscle. AST, on the other hand, is a unique enzyme of the liver, heart, skeletal muscle, kidney and pancreas. According to a study conducted in rabbits, decapitation, aortic incision, false high AST levels in the blood taken from the heart using a direct blood collection methods were determined. The reason for this false positivity is that the skeletal muscle is damaged in every way and the compression of the skeletal muscles during the fixation of the animal is reportedly the result of destruction in the resultant muscles. ALP activity increases in humans in rats and in many other species during pregnancy, whereas in rabbits there is a decline (18-21). When our results of biochemical parameters were compared with some previous biochemical studies of New Zealand Rabbits, serum ALP, AST (11, 15, 17), ALP (16) and GGT (14, 15) activities were lower, whereas, the serum GGT (11), ALT (14), and AST (16) activities were found higher. Likewise, the GGT parameters (17) was found similar value.

In normal laboratory conditions, rabbits have higher serum Ca levels than other mammals. Serum Ca level is not affected by factors such as age and sex. Whereas presented in Table 1 the Ca and P levels were higher than the previous studies (16, 22), these parameters of our study were parallel to another results (14, 15).

In conclusion, our study suggested that determining the normal values of serum biochemistry in New Zealand white rabbits may be beneficial to both clinicians and researchers. On the other side, both the clinical evaluation and to determining health status of animals should be tested at regular intervals and should be based on the values of the control group in the same conditions.



## REFERENCES

1. Yanni AE. The laboratory rabbit: an animal model of atherosclerosis research. *Lab Anim*, 2004; 38(3): 246-56.
2. Calasans-Maia MD, Monteiro ML, Ascoli FO, Granjeiro JM. The rabbit as an animal model for experimental surgery. *Acta Cir Bras*, 2009; 24(4): 325-8.
3. Wang W, Xu R, Li J. Production of Native Bispecific Antibodies in Rabbits. *PLoS ONE*, 2010; 5(6):e10879. doi:10.1371/journal.pone.001087.
4. Matsuzawa T, Nomura M, Unno T. Clinical pathology reference ranges of laboratory animals. *J Vet Med Sci*, 1993; 55: 351-62.
5. Mohri M, Sharifi K, Eidi S. Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: age related changes and comparison with blood composition in adults. *Res Vet Sci*, 2007; 83: 30-39.
6. Olayemi FO, Nottidge HO. Effect of age on the blood profiles of the New Zealand White rabbit in Nigeria. *Afr J Biomed Res*, 2007; 10: 73-76.
7. Mizoguchi Y, Matsuoka T, Mizuguchi H, Endoh T, Kamata R, Fukuda K, Ishikawa T, Asano Y. Changes in blood parameters in New Zealand White rabbits during pregnancy. *Lab Anim*, 2010; 44(1): 33-9. doi: 10.1258/la.2009.008002.
8. Valdez-Garcia JE, Lozano-Ramirez JF, Zavala J. Adult white New Zealand rabbits suitable model for corneal endothelial engineering. *BMC Res Notes*, 2015; 4(8): 28. doi: 10.1186/s13104-015-0995-1.
9. Melillo A. Rabbit Clinical Pathology. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 2007; 16(3): 135-145.
10. Fuentes GC, Newgren J. Physiology and clinical pathology of laboratory New Zealand White rabbits housed individually and in groups. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 2008; 47(2): 35-38.
11. Özkan C, Kaya A, Akgül Y. Normal values of haematological and some biochemical parameters in serum and urine of New Zealand White rabbits. *World Rabbit Sci*, 2012; 20: 253-259, <https://doi.org/10.4995/wrs.2012.1229.
12. Sabah AH, Abd Al-Rahman, Dalal Abd Al-Sattar Asaad Baqey. Effect of the thermal changes on physiological, biochemical and histological traits in pregnant and embryo of New Zealand White rabbits. *Int J Adv Biol Res*, 2016; 6(2): 313-327.
13. Okab AB, El-Banna SG, Koriem AA. Influence of environmental temperatures on some physiological and biochemical parameters of New-Zealand rabbit males. *Slovak J Anim Sci*, 2008; 41(1): 12 - 19.
14. Yazar E, Çöl R, Konyalıoğlu S, Birdane YO, Elmas M, Baş AL. Effects of vitamin E and prednisolone on biochemical and haematological parameters in endotoxaemic New Zealand White Rabbits. *B Vet J Pulawy*, 2004; 48: 105-108.
15. Saad MS, Mohamed AM, Khalid H. Some haematobiochemical values in White New Zealand rabbits. *J Agric Vet Sci*, 2017; 10(7): 40-44 DOI: 10.9790/2380-1007014044.
16. Seyidoğlu N, Galip N, Sonat FA. Effect of yeast culture on growth performance, haematological and biochemical indices of New Zealand white rabbits. *Uludag Univ J Fac Vet Med*, 32(2): 11-17, 2013. 24.

17. Dontas IA, Marinou KA, Iliopoulos D, Tsantila N, Agrogiannis G, Papalois A, Karatzas T. Changes of blood biochemistry in the rabbit animal model in atherosclerosis research; a time- or stress-effect. *Lipids Health Dis*, 2011; 14(10): 139. doi: 10.1186/1476-511X-10-139.
18. Lebas CF, Coudert P, Rouvier R, Rochambeau H. *The Rabbit Husbandry, Health and Production*. The Food and Agricultural Organisation of the United Nations, Rome. Çeviri: Vatansver, H. Ankara: Kardelen Ofset. 2002.
19. Manning P, Ringler DH, Newcomer C. *The biology of the laboratory rabbit*. Academic Press, 1994:111-344.
20. Caisey JD, King DJ. Clinical chemical values for some common laboratory animals. *Clin Chem*, 1980; 26: 1877-1879.
21. Loeb W. *Clinical Biochemistry of Laboratory Rodents and Rabbits*. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML (eds.). *Clinical biochemistry of domestic animals*. California: Academic Press. 1997: 845-855.
22. Gil AG, Silvan G, Illera M, Illera JC. The effects of anesthesia on the clinical chemistry of New Zealand White rabbits. *Contemp Top*, 2004; 43(3): 25-29.

## Kanser erken teşhis ve tarama eğitim merkezleri (KETEM)'ne başvuran kadınlarda human papillomavirüs (HPV) sıklığının değerlendirilmesi ve genotiplerin analizi

### Evaluation of the frequency of human papillomavirus (HPV) in women admitted to cancer early diagnosis and screening training centers (KETEM) and analysis of HPV genotypes

Özgür KAN<sup>1</sup>, Ümit GÖRKEM<sup>1</sup>, Ahmet BARIŞ<sup>2</sup>, Özgür KOÇAK<sup>1</sup>, Cihan TOĞRUL<sup>1</sup>, Engin YILDIRIM<sup>1</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Serviks kanseri Türkiye'de en sık görülen jinekolojik kanserler arasındadır. Human papillomavirüs (HPV) genotipleri ile servikal maligniteler arasında kuvvetli bir neden sonuç ilişkisi mevcuttur ve bölgeler arasında bu genotiplerin dağılımı farklılıklar göstermektedir. HPV dağılımı üzerine yapılmış popülasyon temelli epidemiyolojik çalışmaların eksikliği sebebiyle prevalans ile ilgili veriler kısıtlıdır. Çalışmanın amacı, Çorum ilindeki human papillomavirüs (HPV) pozitiflik oranlarının ve yüksek riskli HPV tiplerinin dağılımlarının incelenerek Türkiye genelinde HPV haritası çıkarılmasıdır.

**Yöntem:** Çorum ili Kanser Erken Teşhis ve Tarama Eğitim Merkezleri (KETEM)'ne, Ağustos 2014 ile Ocak 2018 yılları arasında başvuran toplam 33.649 kadın dahil edilmiştir. Çalışma öncesi üniversite etik kurulundan gerekli onamlar alınmıştır. Servikal sürüntü örnekleri HPV-DNA inceleme için toplanmış ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile HPV DNA araştırılmıştır. HPV DNA sonucunun pozitif olduğu belirlenen olgularda genotiplendirme için yeniden analiz yapılmıştır. Ek olarak, HPV pozitif olan olgularda sitolojik inceleme sonuçları karşılaştırılmıştır.

#### ABSTRACT

**Objective:** CCervical cancer is one of the most common gynecologic cancers among women in Turkey. Human papillomavirus genotypes (HPV) are strongly associated with cervical malignancies, and the distribution of HPV genotypes varies regionally. Data on prevalence are limited due to the lack of population based epidemiological studies on HPV distribution. The purpose of the study was to assess HPV positivity rates, detect high- risk HPV types in Corum and obtain HPV mapping of Turkey.

**Methods:** A total of 33.649 patients who applied to Cancer Early Diagnosis, Screening and Training Centers (KETEM) between August 2014 and January 2018 were included in this study. Prior to the study, permission was obtained from the ethics committee of the university. Cervical swab samples were collected for HPV-DNA examination and polymerase chain reaction (PCR) method used to detect HPV DNA. Genotyping was performed in HPV DNA positive samples. In addition, cytologic examination results were also recorded in patients with HPV positives.

**Results:** HPV DNA positivity was found in 3.29%

<sup>1</sup>Hittit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Ana Bilim Dalı, Çorum  
<sup>2</sup>Çorum Halk Sağlığı Müdürlüğü, Çorum



**İletişim / Corresponding Author :** Özgür KAN

Hittit Üniversitesi Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı 19200 Çorum - Türkiye

Tel : +90 533 351 69 69

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

Geliş Tarihi / Received : 09.08.2018

Kabul Tarihi / Accepted : 10.11.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.47123

Kan Ö, Görkem Ü, Barış A, Koçak Ö, Toğrul C, Yıldırım E. Kanser erken teşhis ve tarama eğitim merkezleri (KETEM)'ne başvuran kadınlarda human papillomavirüs (HPV) sıklığının değerlendirilmesi ve genotiplerin analizi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(2): 163-168

**Bulgular:** Çalışmaya dahil edilen kadınlarda HPV DNA pozitiflik oranı %3,29 olarak saptanmıştır. HPV DNA pozitifliği saptanan 1108 olguda, serviks kanseri açısından en yüksek riskli alt tipler olan Tip 16 ve Tip 18 sıklıkları, sırasıyla %14,69 ve %1,17 olarak izlenmiştir. HPV DNA pozitifliği izlenen kadınların sitolojik sonuçları incelendiğinde %66,52'sinde prekanseröz lezyon saptanmamıştır ve bu hastaların %41,34'ünde enfeksiyon ilişkili sitoloji sonuçları gözlenmiştir. En sık izlenen sitolojik anormal sonuç %8,21 ile düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (LSIL) olarak görülmüştür.

**Sonuç:** HPV tiplendirme serviks kanseri tarama programlarında giderek önem kazanmaktadır. Bölgesel farklılıklar ve literatürde yer alan çalışmaların metodolojisindeki heterojen dağılım düşünüldüğünde; Sağlık Bakanlığı'nın 2019 yılında yayımlaması beklenen Türkiye geneli tarama programı sonuçları HPV prevalansının ve bölgeler arasındaki dağılımın değerlendirilmesinde yol gösterici olacaktır. HPV genotiplerinin yaygınlığının değerlendirilmesi ve ülkenin her bölgesinden edinilen verilerin analizi ile uygun aşılama ve korunma politikaları geliştirilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Human papillomavirüs, serviks kanseri, genotip, Türkiye

of the patients. HPV DNA was positive in 1108 cases, The highest risk subtypes for cervical cancer, Type 16 and 18, were 14.69% and 1.17%, respectively. When cytological results of HPV DNA positive women were examined; 66.52% of the patients had no precancerous lesion and infection-related cytology results were observed in 41.34% of these patients. The most frequent cytologic abnormal result was LSIL with 8.21%.

**Conclusion:** HPV typing studies are increasingly important in cervical cancer screening. Considering the regional differences and the heterogeneity of the studies, the results of the Ministry of Health's screening program in 2019 will guide the assessment of the prevalence. By mapping HPV genotypes and evaluating advanced data across all country, appropriate vaccination and prevention policies can be developed.

**Key Words:** Human papillomavirus, cervical cancer, genotype, Turkey

## GİRİŞ

Serviks kanseri kadınlarda en sık görülen dördüncü kanser olup tüm dünyada kanser ilişkili kadın ölümlerinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır (1). Dünya genelinde, büyük kısmı aşı ile önlenilecek, yılda yaklaşık yarım milyon serviks kanseri olgusunun tanı aldığı düşünülmektedir (2). Ülkemizde ise Sağlık Bakanlığı Kanser Dairesi verilerine göre yılda 1695 kadın serviks kanseri tanısı almaktadır ve kadınlarda görülen en sık 10. kanser konumundadır (3).

Serviks kanserlerinin tamamına yakınında sebep yüksek riskli human papilloma virüs (HPV) pozitifliği ve persistan HPV enfeksiyonudur (4). HPV, 200'den

fazla alt tipi olan zarfsız bir DNA virüsüdür. Dünyada cinsel yolla bulaşan hastalıklar arasında en sık izlenen etkindir ve özellikle genital siğillerden serviks kanserine kadar birçok anogenital bölge hastalığı ile ilişkilendirilmiştir. Servikal kanser açısından yüksek riskli tipler arasında 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82 bulunmaktadır ve bu tiplerden herhangi biri ile enfekte olunması durumunda, invaziv kansere ilerleyebilen servikal intraepitelyal neoplazi gelişebilir (5). Servikal kanser vakalarında tip 16 ve 18 en sık izole edilen tipler olup, hastaların %50'den fazlasında tip 16 görülmektedir (6).

Ülkemizde T.C. Sağlık Bakanlığı 2014 yılında, beş yıl sürecek bir tarama programı ile 30-65 yaş aralığında yer alan kadınların serviks kanseri açısından taranmasını hedeflemiş ve bu kapsamda 2018 yılı Ocak ayına dek ülke genelinde 3.251.656 kadına HPV tiplendirmesi yapılmıştır. Çıkan sonuçlar neticesinde ,HPV pozitiflik oranı %4,18 olarak bulunmuştur. Devam eden süreçte, tarama testi uygulanan olgu sayısının 2019 yılı ortalarında 16.045.550 olması hedeflenmektedir.

Çalışmanın amacı, Çorum ilindeki Kanser Erken Teşhis ve Tarama Eğitim Merkezleri (KETEM)'ne başvuran kadınlarda HPV pozitiflik oranlarının ve yüksek riskli HPV tiplerinin dağılımlarının incelenerek başvuranlarda hastalığın yaygınlığının değerlendirilmesi ve HPV haritası çıkarılmasıdır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya Karadeniz bölgesinde yer alan Çorum ili Kanser Erken Teşhis ve Tarama Eğitim Merkezleri (KETEM)'ne, Ağustos 2014 ile Ocak 2018 yılları arasında başvuran toplam 33.649 hasta dahil edilmiştir. Araştırma için öncelikle Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi girişimsel olmayan etik kurul onayı alınmıştır. Daha sonra verilerin kullanımı için Çorum Halk Sağlığı Müdürlüğü aracılığıyla T.C. Sağlık Bakanlığı'ndan gerekli izinler alınarak veriler retrospektif olarak analiz edilmiştir.

Servikal sürüntü örnekleri HPV-DNA inceleme için toplanmıştır. Ulusal HPV laboratuvar çalışma prensipleri işleyişine uygun olacak şekilde kabul edilen STM (sample transport medium) ve smear örnekleri, 65 °C 'de 45 dakika su banyosunda bekletilip, denatürasyon işleminden geçirilerek tek zincirli DNA formuna dönüştürülmüştür. Takiben Rapid Capture System (RCS-Hızlı yakalama sistemi) laboratuvarında DML 3000 luminometre cihazında Digene HPV HC2 DNA test kiti (Qiagen, Hilden, Almanya) ile örnekler incelenerek HPV pozitif ve negatif olarak ayrılmıştır. HPV pozitif çıkan örneklerde DNA izolasyonu için üreticinin kullanım

önerileri doğrultusunda, EZ1 Advanced İzolasyon cihazı ve EZ1 virus mini kit (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak PCR uygulanmıştır. Genotiplendirme için Clart HP2 PCR kiti (Genomica, Madrid, İspanya) ile hazırlık yapılmıştır ve microarray sistemiyle stripler okutulmuştur. Sonuç alınamayan örnekler ise Qiagen Rotor-Gene Q Real Time (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazına konularak sonuçlandırılmıştır. Onaylanmış HPV pozitif izolatlar -20°C 'de soğuk odada beş yıl süre ile saklanmak üzere stoklanmıştır.

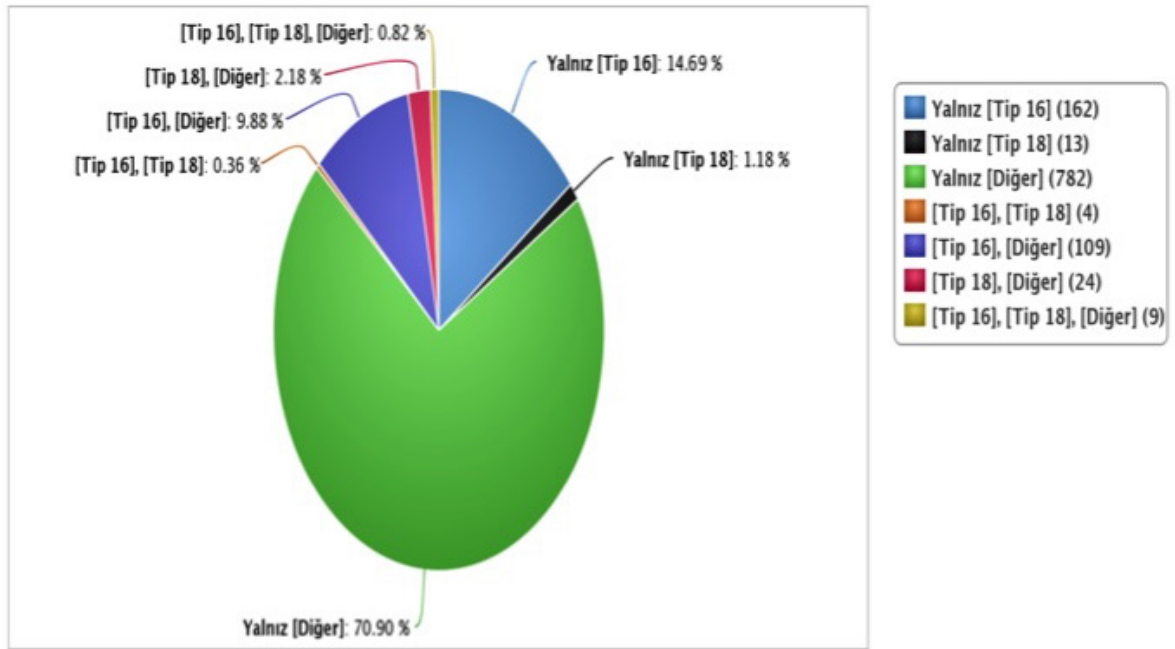
Sitolojik inceleme sonuçları; Bethesda 2001 sistemine göre yorumlanmıştır. Bu sisteme göre sitoloji sonuçları önemi belirlenemeyen atipik skuamöz hücreler (ASC-US), atipik glandüler hücreler (AGC), düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (LSIL), yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (HSIL), adenokarsinoma in situ (AIS) ve skuamöz hücreli serviks kanseri (SCC) olarak sınıflandırılmıştır.

## BULGULAR

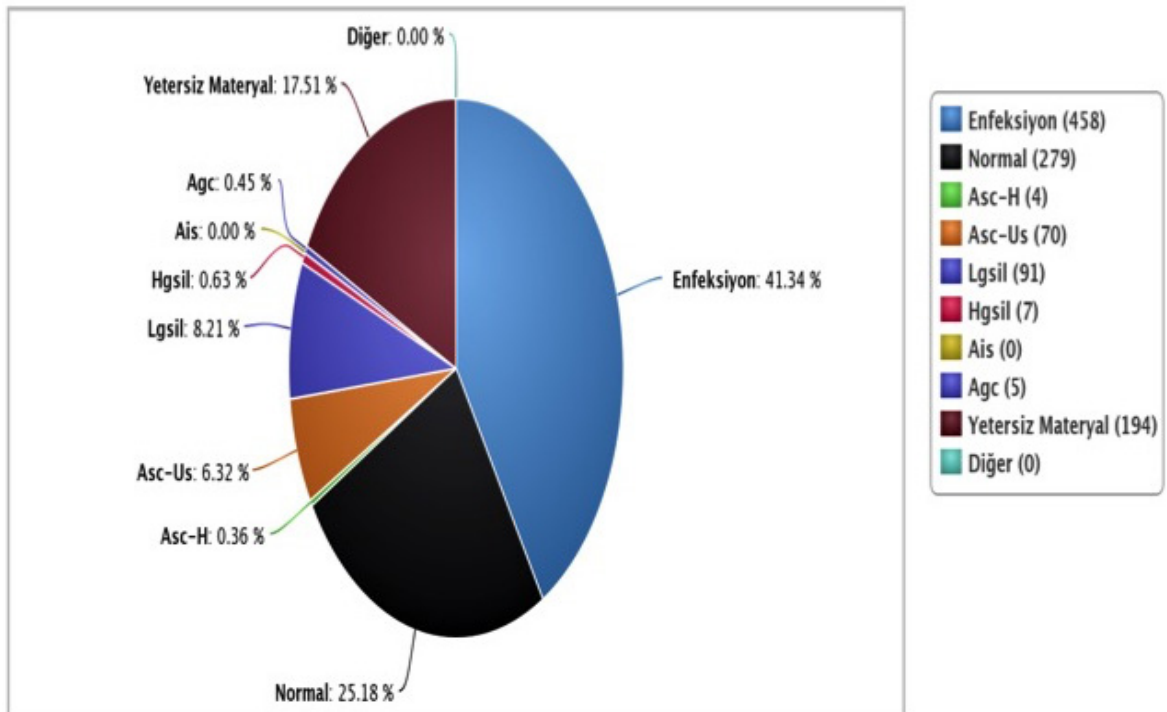
HPV tiplendirme testi ile tarama yapılan toplam 33.649 hastanın 1108'inde HPV pozitifliği saptanmıştır (%3.29). Tarama programına dahil edilmiş olan 163 hastada yetersiz materyal elde edilmiştir (%0.03).

HPV pozitifliği saptanan olguların 162'sinde (%14.69) etkenin yalnızca tip 16 ilişkili olduğu bulunmuştur. Yalnızca tip 18 pozitifliği 13 olguda izlenmiştir (%1.17). HPV pozitifliği saptanan 1108 olgunun büyük kısmını oluşturan 782 olguda etkenin (%70.9) tip 16 ve 18 haricindeki diğer alt tipler olduğu görülmüştür (Şekil 1).

HPV tarama testi pozitif olan 1108 hastanın Pap testi ile servikal sitoloji sonuçları değerlendirildiğinde, 279 olguda (%25,18) sitoloji normal raporlanırken, 458 olguda (%41,34) ise enfeksiyon ilişkili sitoloji sonuçları ortaya konmuştur. 70 hastada (%6,32) sitoloji sonucu ASC-US izlenirken, beş hastada (%0,45) AGC ile karşılaşılmıştır. Doksan bir hastada LSIL (%8,21), yedi hastada HSIL (%0,63) izlenmiş olup, olguların herhangi birinde AIS saptanmamıştır (Şekil 2).



Şekil 1. HPV pozitifliği saptanan olgularda genotiplerin dağılımı



Şekil 2. HPV pozitifliği saptanan olguların sitolojik inceleme sonuçları

## TARTIŞMA

Servikal kanser tarama testlerinin rutin kullanıma girmesi ile prekanseröz lezyonların tanınması ve erken dönemde hastalığın kontrol altına alınmasına bağlı olarak hastalığın insidansında ve mortalite oranlarında azalma sağlandığı ortaya konulmuştur (7, 8). HPV prevalansının belirlenmesi ve tiplerin dağılımının değerlendirilmesi hem tedavi hem aşılama stratejileri açısından önemlidir.

Servikal kanser tarama programı, bilindiği üzere papanicolaou (Pap) test ile başlamış olup, devam eden süreçte yüksek riskli HPV tiplerinin araştırıldığı HPV tiplendirme testine doğru yönelmektedir. Farklı onkoloji gruplarının tarama ile ilgili önerilerinin birbirinden farklı olması sebebiyle optimal yöntem henüz karar verilememiştir. HPV tiplendirme testinin, gerek tek başına gerek Pap test ile kombine kullanımının servikal histopatolojileri tanıda daha sensitif olduğu gösterilmiştir (4, 9). HPV-DNA ve Pap smear testlerinin etkinliğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, yüksek dereceli lezyonlarda HPV-DNA duyarlılık ve özgüllüğü %94,6 ve %94,2, Pap smear testin duyarlılık ve özgüllüğü ise %55,4 ve %96,8 olarak bulunmuştur. Her iki testin kombine kullanımı ile duyarlılığın %100, özgüllüğün ise %92,5 olduğu belirtilmiştir (10).

HPV prevalansı dünya genelinde %1,4 ile %25,6 aralığında olarak raporlanmış ve serviks kanserli hastaların yaklaşık %85'inin düşük gelirli ülkelerde yaşadığı belirtilmiştir (11, 12). HPV prevalansı sosyokültürel nedenler, uygulanan teknik ve alınan materyalin kalitesi gibi birçok nedenle ilişkili olarak değişkenlik göstermektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda; Türkiye'deki farklı bölgelerdeki HPV DNA pozitiflik düzeyinin %2,7 ile %8,5 arasında olduğu raporlanmıştır (13-15). Çalışmamızda; HPV pozitiflik yüzdesi yaştan bağımsız olarak %3,29 bulunmuştur. Gerek bölgeler gerek dünyadaki prevalans oranları arasındaki farkın altında yatan temel sebebin daha önceki çalışmalarda belirtildiği gibi özellikle sosyokültürel farklılıklar, seksüel yaşam ve inançlar ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (16).

HPV tipleri değerlendirildiğinde, kanser

riski en yüksek alt tipler olan tip 16, tip 18 ve kombinasyonlarının HPV pozitifliği olan hastaların %25,36'sını oluşturdukları görülmüştür. Amasya bölgesinde yapılmış olan ve 7992 olgunun dahil edildiği bir çalışmada; bu iki alt tipin pozitiflik yüzdesi benzer şekilde %28,1 olarak bulunmuştur (13). Farklı bölgelerde ve populasyonlarda HPV tipleri pozitiflik yüzdeleri belirgin farklılıklar göstermektedir (14-16).

HPV enfeksiyonu düşük dereceli bir lezyon olarak başlayıp karsinoma kadar ilerleyebilen bir hastalıktır (17). Literatürde yapılmış olan çalışmalar değerlendirildiğinde, birbirinden farklı sitolojik sonuçlar izlenmektedir. Çalışmamızda, HPV pozitif olgular sitolojik olarak değerlendirildiğinde normal ve enfeksiyon ilişkili sonuçlar sırasıyla %25,18 ve %41,34 olarak izlenmiştir. En sık izlenen anormal sitolojik bulgular ise LSGIL ve ASCUS olarak görülmüştür (%8,21, %6,32). Asya kıtasında sitolojik olarak anormallik izlenmemiş hastalarda HPV prevalansının %1.6 ile %14.2 arasında değiştiği raporlanmıştır (18). Benzer şekilde Çin'de yapılan 961.029 örnek içeren geniş serili bir çalışmada HPV pozitif olguların %18'inde normal sitolojik sonuçlar elde edilmiştir (19). Yine aynı çalışmada, LSIL ve HSIL olgularında HPV pozitiflik oranlarının sırasıyla %89,74 ve %93,43 olarak saptanması HPV enfeksiyonu ile servikal neoplazi arasındaki kuvvetli nedensellik ilişkisini ortaya koymaktadır.

Tarama programlarının dezavantajları ise belirli hasta gruplarında takip ve tedavinin gerekenden daha radikal olarak planlanması ile ilişkilidir. Özellikle reproduktif dönemdeki hastalarda tarama testi ile elde edilen sonuçların tanı ve tedavi yöntemlerine iletildiğinde servikal stenoz, preterm doğum riski ve perinatal mortalite riskinde artış izlenebilir.

Sonuç olarak, bölgesel farklılıklar ve literatürde yer alan çalışmaların heterojenliği düşünüldüğünde, Türkiye'deki HPV tiplerinin prevalansının net bir şekilde değerlendirilebilmesi için Sağlık Bakanlığı'nın 2019 yılında yayınlaması beklenen tarama programı sonuçları yol gösterici olacaktır. Elde edilen verilerin sonucunda daha sık görülen tiplerin dahil edileceği aşılama programlarının yürürlüğe girmesi ile serviks kanserinin eradike edilmesi hayaline bir adım daha yaklaşılabilir.

**TEŞEKKÜR**

T.C. Sağlık Bakanlığı Çorum İl Sağlık Müdürlüğü ve Halk Sağlığı Müdürlüğü'ne analiz yapılması için verilerin kullanım izni nedeniyle teşekkür ederiz.

**KAYNAKLAR**

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*, 2015; 136(5): 359-86.
2. World Health Organization. Bulletin of the World Health Organization (BLT). 2006; 84 (2): 84-9.
3. Kanser Daire Başkanlığı. Türkiye Kanser İstatistikleri. Ankara, 2015.
4. Ronco G, Dillner J, Elfström KM, Tunesi S, Snijders PN, Arbyn M, et al. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomized controlled trials. *Lancet*, 2014; 383(9916): 524-32.
5. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirustypes associated with cervical cancer. *N Engl J Med*, 2003; 348: 518-27.
6. de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol*, 2010; 11(11): 1048-56.
7. Peirson L, Fitzpatrick-Lewis D, Ciliska D, Warren R. Screening for cervical cancer: a systematic review and meta-analysis. *Syst Rev*, 2013; 2: 35.
8. Whitlock EP, Vesco KK, Eder M, Lin JS, Senger CA, Burda BU. Liquid-based cytology and human papillomavirus testing to screen for cervical cancer: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*, 2011; 155(10): 687-97.
9. Feldman S. Human papillomavirus testing for primary cervical cancer screening; is it time to abandon Papanicolaou testing? *JAMA Intern Med*, 2014; 174: 1539-40.
10. Koliopoulos G, Arbyn M, Martin-Hirsch P, Kyrgiou M, Prendiville W, Paraskevaidis E. Diagnostic accuracy of human papillomavirus testing in primary cervical screening: A systematic review and meta-analysis of non-randomized studies. *Gynecol Oncol*, 2007; 104: 232-46.
11. Clifford GM, Rana RK, Franceschi S, Smith JS, Gough G, Pimenta JM. Human papillomavirus genotype distribution in low-grade cervical lesions: comparison by geographic region and with cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005; 14(5): 1157-64.
12. International Agency for Research on Cancer (IARC). 2007a. Summary of data reported and evaluations: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Volume 90. Human papillomaviruses. Lyon: World Health Organization. pp 465-477.
13. Guckan R, Kilinc C, Gozdemir E, Gurcaglar AA, Nergiz O. Prevalence and distribution of high-risk human papillomavirus in Amasya region, Turkey. *Biomed Res*, 2016; 27(3): 769-72.
14. Altun Z, Yarkın F, Vardar MA, Uğuz AH. The prevalence of human papilloma virus infection among women who admitted to Cukurova university faculty of medicine hospital. *J Med Sci*, 2011; 31: 307-14.
15. Akcali S, Goker A, Ecemis T, Kandiloglu AR, Sanlidag T. Human papilloma virus frequency and genotype distribution in a Turkish population. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013; 14(1): 503-6.
16. Dursun P, Senger SS, Arslan H, Kuscu E, Ayhan A. Human papillomavirus (HPV) prevalence and types among Turkish women at a gynecology outpatient unit. *BMC Infect Dis*, 2009; 9: 191.
17. Köse F, Turan T. Tumorigenesis of cervical cancer and HPV. *Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst-Special Topics*, 2009; 2(1): 13-8.
18. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Munoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet*, 2005; 366(9490): 991-8.
19. Chen X, Xu H, Xu W, Zeng W, Liu J, Wu Q, et al. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus in 961,029 screening tests in southeastern China (Zhejiang Province) between 2011 and 2015. *Sci Rep*, 2017; 7(1): 14813.



# Yoğun bakım ünitesinde gelişen sağlık bakımı ile ilişkili *Candida* enfeksiyonlarının değerlendirilmesi

## Evaluation of health-care associated *Candida* infections in an intensive care unit

Şerife ÇETİN<sup>1</sup>, Hafize SAV<sup>1</sup>, İlhami ÇELİK<sup>1</sup>, Elif BOLAT<sup>1</sup>, Fahriye AFSAR-ÇAGIR<sup>1</sup>, Tuğba BULUT<sup>1</sup>,  
Gülden ŞENGÜL<sup>1</sup>, Serpil BASLARLI<sup>1</sup>, Özlem KAYA-HASSU<sup>1</sup>

### ÖZET

**Amaç:** *Candida* türleri sağlık bakımı ile ilişkili (SBİ) enfeksiyona yol açan tedavisi güç, mortalitesi yüksek patojenlerdendir. Sağlık bakımı ile ilişkili *Candida* enfeksiyonu insidansı bin hasta gününde 0,8-4,5 ve mortalitesi %5,8-%83,3 arasındadır. Bu çalışmada, *Candida* türlerine bağlı gelişen SBİ enfeksiyon sıklığı, *Candida* türleri, risk faktörleri ve mortalitenin irdelenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Bu çalışmada, İç Hastalıkları Yoğun Bakım Ünitesinde (YBÜ), 01 Ocak 2014 - 31 Aralık 2016 tarihleri arasında takip edilen 3399 hasta çalışmaya dâhil edildi. Hasta ve laboratuvara dayalı aktif sürveyans yöntemi ve Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (Centers for Disease Control and Prevention (CDC)) tanı kriterleri eşliğinde *Candida* enfeksiyonu tanısı alan 41 olgu retrospektif olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** SBİ *Candida* enfeksiyon insidansı bin hasta gününde 3,7 olarak tespit edilmiştir. Hastaların %53,7 (n=22)'si kadın ve %85,3 (n=35)'ü 65 yaşın üzerinde idi. *Candida* enfeksiyonlarının %73,1'inin üriner kateter ilişkili üriner sistem enfeksiyonu (ÜKİ-ÜSE) olduğu saptanmıştır. İzole edilen *Candida* türlerinin %73,2 (n=30)'sinin non-*albicans* olduğu bulunmuştur. Mortalitenin %70,7

### ABSTRACT

**Objective:** *Candida* species are one of the pathogens with difficult to treat and that cause Healthcare-Associated Infections (HAIs) mortality highest. *Candida* infection is 0.8-4.5 per 1000 patient days and the mortality between 5.8% and 83.3%. The aim of this study was to investigate the incidence of HAIs *Candida* infection, and the risk factors of causing infections, *Candida* species and mortality.

**Methods:** A total of 3399 patients who were hospitalized to Internal Medicine Intensive Care Unit between January 01, 2014 and December 31, 2016 were included in the study. It was retrospectively investigated forty-one patients who were diagnosed with clinic of patient's, laboratory based surveillance method and Centers for Disease Control and Prevention diagnostic criteria with *Candida* infections.

**Results:** The incidence of HAIs *Candida* infection is 3.7 per thousand patient days. 53.7% (n=22) of the patients were female and 85.3% (n=35) were over 65 years old. 73.1% of *Candida* infections were urinary catheter associated urinary tract infection. Non-*albicans* were isolated in rate 73.2% (n=30). The mortality of patients with *Candida* infection were 70.7%

<sup>1</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Kontrol Komitesi, Kayseri



İletişim / Corresponding Author : Şerife ÇETİN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 38050 Kayseri - Türkiye

Tel : +90 553 534 69 29

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

Geliş Tarihi / Received : 02.07.2018

Kabul Tarihi / Accepted : 10.11.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.78785

Çetin Ş, Sav H, Çelik İ, Bolat E, Afsar-Çagır F, Bulut T, Şengül G, Baslarlı S, Kaya-Hassu Ö. Yoğun bakım ünitesinde gelişen sağlık bakımı ile ilişkili *Candida* enfeksiyonlarının değerlendirilmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(2): 169-176

(n=29) olduğu belirlenmiştir. Mekanik ventilatör (MV) desteğinde olan 17 hastanın 15'inin öldüğü (p=0.038), total paranteral nutrisyon (TPN) tedavisi uygulanan 19 hastanın ise 17'sinin öldüğü saptanmıştır (p=0.014). *Candida* türüne göre mortalite incelendiğinde, *C. albicans* üremesi olan 11 hastanın 10'unun, non-*albicans* üremesi olan 30 hastanın ise 19'unun öldüğü tespit edilmiştir (p=0.086). Cinsiyet, yaş, diyaliz tedavisi, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), diyabetes mellitus (DM), kardiyovasküler hastalık (KVH), böbrek hastalığı (BH), üriner kateter (ÜK) ve santral venöz kateter (SVK) gibi risk faktörlerinin mortalite ile ilişkisinin olmadığı saptanmıştır.

**Sonuç:** Çalışmamız sonucunda, hastanede yatış süresinin uzaması, MV desteği, TPN tedavisi ve *Candida* türlerinin mortaliteyi etkileyeceği belirlenmiştir. YBÜ'de çalışan sağlık profesyonellerinin invaziv işlemlerde asepsiye uyması, doğru şekilde el hijyeni sağlaması, enfeksiyon kontrol önlemlerine etkin olarak uyması ile birlikte bu profesyonellere periyodik olarak eğitim verilmesi ve sağlık bakım standartlarının artırılması sonucunda SBI *Candida* enfeksiyon insidansı ve mortalitesi azaltılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** *Candida*, yoğun bakım ünitesi, sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyon, mortalite

(n=29). Fifteen of seventeen patients with mechanical ventilation (MV) died (p=0.038). Seventeen of nineteen patients who underwent total parenteral nutrition (TPN) treatment were found to have died (p=0.01). When investigated mortality by type of *Candida*, one of eleven patients with *C. albicans* and 19 of 30 patients with non-*albicans* died (p=0.08). There was no correlation between mortality with risk factors such as sex, age, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), diabetes mellitus (DM), cardiovascular disease (CVD), renal disease (RD), urinary catheter (UC) and central venous catheter (CVC) (p> 0.05).

**Conclusion:** In the study, length of hospital stay, MV support, TPN therapy and *Candida* species were determined to affect mortality. Health professionals working in the ICU are recommended to practice hand hygiene, aseptic techniques in invasive procedures, infection control and prevention procedures. In addition, periodic education of health professionals and development of healthcare standards can reduce the incidence and the mortality of HAIs *Candida* infection.

**Key Words:** *Candida*, intensive care unit, health-care associated infection, mortality

## GİRİŞ

Hastanede yatan hastaların %5-10'u Yoğun Bakım Ünite (YBÜ)'lerinde takip ve tedavi edilmektedir ancak sağlık bakımı ile ilişkili (SBI) enfeksiyonların tümü değerlendirildiğinde yaklaşık %25'inin YBÜ'lerde geliştiği görülmektedir. Hastanede yatış süresinin uzunluğu, hastalıkların ağır olması, ek hastalıkların varlığı (DM, BH, hipertansiyon, vs.), MV, ÜK, SVK, nazogastrik kateter, periferik venöz kateter gibi invaziv işlemler, cerrahi girişimler, dezenfeksiyon-sterilizasyonun yeterli olmaması, YBÜ'nün temizliğinin uygun şekilde yapılmaması,

asepsi-antisepsi ve el hijyeni kurallarına yeteri kadar uyulmaması gibi durumlar enfeksiyon riskini artırmaktadır (1, 2). SBI enfeksiyonlara neden olan birçok patojen vardır; bunlardan biri de *Candida* türleri olup, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* spp., gibi mikroorganizmalardan sonra 3-6. sırada yer almaktadır ve yüksek oranda mortaliteye neden olduğu bilinmektedir (3-8). Literatür incelendiğinde SBI *Candida* enfeksiyonu insidansının bin hasta gününde 0.8-4.5 arasında yer aldığı ve mortalite

oranının %5.8-%83.3 arasında değiştiği görülmektedir (5, 9-17).

Bu çalışmada, İç Hastalıkları YBÜ'de üç yıl boyunca *Candida* türlerine bağlı gelişen SBİ enfeksiyon düzeyinin, üreyen *Candida* türlerinin, risk faktörlerinin ve mortalitenin irdelenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma 1460 yataklı Sağlık Bilimleri Üniversitesi Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesinde retrospektif olarak yapılmıştır. İç Hastalıkları YBÜ'de, 01 Ocak 2014 - 31 Aralık 2016 tarihleri arasında takip edilen 3399 hasta çalışmaya dâhil edilmiştir. Veriler hasta ve laboratuvara dayalı aktif sürveyans yöntemi ile elde edilmiştir. Sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyon tanısı, CDC tanı kriterlerine göre konulmuştur (18).

### Mikolojik tanı yöntemleri

Hastanemizin laboratuvarına gönderilen idrar ve kan örnekleri antibiyotikli ve antibiyotiksiz Sabouraud Dektroz Agar (SDA, Oxoid, UK) besiyerine ekilip hem 25°C'lik, hem de 37°C'lik etüvlerde 24 saat inkübe edilmiştir. Üreyen mantar cinsi *Candida* türlerinin tanımlanması Germ tüp, Chromagar konvansiyonel ve Phoenix (Becton Dickinson, ABD) ticari yöntemi ile yapılmıştır.

### İstatistiksel yöntem

Verilerin istatistiksel analizi Statistical Package for

Social Science (SPSS) 22 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen verilerin dağılımını açıklamak için sayı, yüzde, ortalama ± standart sapma ve çapraz tabloların analizinde ki-kare ( $\chi^2$ ) testi kullanılmıştır.  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Takip edilen 3399 hastanın 41'inde SBİ *Candida* enfeksiyonu geliştiği görülmüştür. *Candida* üreyen hastaların %53,7 (n=22)'sinin kadın ve yaş ortalamasının 75,1±11,7 (min-maks:34-90) olduğu tespit edilmiştir. Yatış tanısının çoğunlukla BH (%63.4) olduğu, 22 hastada da en az bir tane ek hastalığın olduğu ve en sık KVH (n=10) görüldüğü tespit edilmiştir. YBÜ'de ortalama yatış süresinin 25,6±12.4 (min-max:8-54) ve enfeksiyonun geliştiği ortalama yatış gününün 14,8±10,0 (min-max:3-45) olduğu bulunmuştur. Enfeksiyon gelişen hastaların mortalitesinin %70,7 (n=29) olduğu saptanmıştır.

İç Hastalıkları YBÜ'de *Candida* ilişkili enfeksiyon hızı %1,2, insidansı bin hasta gününde 3,7 idi, yıllara göre dağılım ise Tablo 1'de sunulmuştur. Hastaların kliniği, hastalardan alınan kültür örneklerinin sonuçları ve CDC tanı kriterleri eşliğinde 30 (%73,1) hastaya ÜKİ-ÜSE, 9 (%22,0) hastaya Laboratuvarca Kanıtlanmış Kan Dolaşımı Enfeksiyonu (LK-KDE), 2 (%4,9) hastaya Santral Venöz Kateter ilişkili-Kan Dolaşımı Enfeksiyonu (SVKİ-KDE) tanıları konuldu

Tablo 1. Sağlık bakımı ile ilişkili *Candida* enfeksiyonu hızlarının yıllara göre dağılımı

Yıl	Yatan Hasta Sayısı	Hasta Günü	SBİ <i>Candida</i> Enfeksiyon Hızı* %	SBİ <i>Candida</i> Enfeksiyon İnsidansı** 1000 Hasta Gününde
2014	1311	4025	1.60	5.21
2015	975	3478	0.82	2.30
2016	1113	3577	1.07	3.35
Toplam	3399	11080	1.20	3.70

\*SBİ *Candida* Enfeksiyon Hızı=Hastane Enfeksiyonu Sayısı (*Candida*) / Yatan Hasta Sayısı x 100

\*\*SBİ *Candida* Enfeksiyon İnsidansı=Hastane Enfeksiyonu Sayısı (*Candida*) / Hasta Günü X 1000

SBİ: Sağlık Bakımı ile İlişkili

Tablo 2. Sağlık bakımı ile ilişkili *Candida* enfeksiyonlarının dağılımı

Sağlık Bakımı ile İlişkili <i>Candida</i> Enfeksiyonları	n	%
ÜKİ-ÜSE	30	73,1
LK-KDE	9	22
SVKİ-KDE	2	4,9
<b>Toplam</b>	<b>41</b>	<b>100</b>

ÜKİ-ÜSE: Üriner Kateter İlişkili Üriner Sistem Enfeksiyonu

LK-KDE: Laboratuvarca Kanıtlanmış Kan Dolaşımı Enfeksiyonu

SVKİ-KDE: Santral Venöz Kateter İlişkili Kan Dolaşımı Enfeksiyonu

(Tablo 2). *Candida* türlerinin 22 (%53,7)'si *Candida* spp., 11 (%26,8)'i *C. albicans*, 5 (%12,2)'i *C. tropicalis* ve 2 (%4,9)'si *C. parapsilosis* olarak izole edilmiştir.

Mortalite ile risk faktörleri arasındaki ilişki incelendiğinde (Tablo 3); MV desteğindeki 17 hastanın 15'inin öldüğü belirlenmiştir ve MV desteği olmayan grup ile kıyaslandığında mortalitenin MV desteği alan grupta daha yüksek olduğu istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ( $p=0.038$ ). TPN tedavisi uygulanan 19 hastanın 17'sinin öldüğü, TPN tedavisi uygulanmayan 22 hastanın 12'sinin öldüğü belirlenmiştir ve bu iki grup kıyaslandığında, TPN tedavisi uygulanan hastalarda mortalitenin daha yüksek olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0.014$ ). Cinsiyet, yaş, diyaliz tedavisi, KOAH, DM, KVH, BH, ÜK ve SVK gibi risk faktörlerinin mortalite üzerine etkisi istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır. *Candida* türüne göre mortalite incelendiğinde, *C. albicans* üremesi olan 11 hastanın 10'unun öldüğü, non-*albicans* üremesi olan 30 hastanın ise 19'unun öldüğü tespit edilmiştir ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p=0,086$ ).

## TARTIŞMA

Hastanede yatırılarak tedavi edilen her on hastadan birinde SBI enfeksiyon gelişmektedir. Etkin

bir şekilde enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması ve uygulanması ile SBI enfeksiyon hızının %30 oranında azaltılabileceği bilinmektedir (15).

Çalışmamızda, çoğunlukla kandidürinin kadınlarda (%63,3;n=30), kandideminin erkeklerde (%72,7;n=11) olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda çalışma sonucumuza benzer şekilde çoğunlukla kandidürinin kadınlarda (%55,6-66,6), kandideminin erkeklerde (%52,7-70,4) daha fazla görüldüğü bildirilmiştir (5, 9, 11, 19, 20). Bununla birlikte çalışmamızda *Candida* türlerinin etken olduğu hasta grubunun yaş ortalamasının 75,1±11,7 ve %85,3'nün 65 yaş üzerinde olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde; yaş ortalamasının 58,45 ile 71,6±16 arasında değiştiği belirlenmiştir (11, 19, 20). Hastanemizde yatan ve *Candida* enfeksiyonu tespit edilen hastaların yatış günü ortalamasının 25,6±12,4 (min-max:8-54) olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda YBÜ'de ortalama yatış süresinin 41,45-48,2±7,5 arasında değiştiği bildirilmiştir (19, 20). Hasta yatış süresinin farklılık arz etmesi hastaların kliniklerinin ağır olması, klinisyenlerin farklı tedavi protokolleri ve izole edilen türlerin bölgesel epidemiyolojik çeşitlilik göstermesine bağlanabilir. Ayrıca hastanemizde *Candida* türlerinin etken olduğu SBI enfeksiyonu olan olguların mortalitesinin %70,7 (n=29) olduğu görülmektedir. Ülkemizde yapılan

Tablo 3. Mortalite ile risk faktörleri arasındaki ilişki (n=41)

Risk Faktörleri		n	Mortalite (n)	p
Cinsiyet	Kadın	22	15	0.699
	Erkek	19	14	
Yaş	>65 yaş	35	26	0.227
	<65 yaş	6	3	
SBİ <i>Candida</i> İnfeksiyonları	ÜKİ-ÜSE	30	21	0.727
	LK-KDE	9	7	
	SVKİ-KDE	2	1	
<i>Candida</i> Türü	<i>C. Albicans</i>	11	10	0.086
	Non- <i>Albicans</i>	30	19	
DM	Var	6	4	0.813
	Yok	35	25	
KOAHA	Var	9	5	0.257
	Yok	32	24	
KVH	Var	10	9	0.124
	Yok	31	20	
BH	Var	30	22	0.545
	Yok	11	7	
Diyaliz	Var	12	8	0.713
	Yok	29	21	
MV	Var	17	15	0.038
	Yok	24	14	
ÜK	Var	40	28	0.515
	Yok	1	1	
SVK	Var	32	24	0.257
	Yok	9	5	
TPN	Var	19	17	0.014
	Yok	22	12	

ÜKİ-ÜSE: Üriner Kateter İlişkili Üriner Sistem Enfeksiyonu

LK-KDE: Laboratuvarca Kanıtlanmış Kan Dolaşımı Enfeksiyonu

SVKİ-KDE: Santral Venöz Kateter İlişkili Kan Dolaşımı Enfeksiyonu

DM: Diyabetes Mellitus

KOAH: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı

KVH: Kardiyovasküler Hastalık

BH: Böbrek Hastalığı

MV: Mekanik Ventilator

ÜK: Üriner Kateter

SVK: Santral Venöz Kateter

TPN: Total Parenteral Nutrisyon

benzer çalışmalarda, *Candida* izole edilen hastaların mortalitesinin %14,6-83,3 arasında değiştiği belirlenmiştir (5, 9, 12, 13, 19). Yurt dışında yapılmış çalışmalarda ise mortalitenin %28.3-30.1 arasında değiştiği görülmüştür (10, 11, 17). Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuç ülkemizde yapılan çalışmalarla benzerdir fakat mortalitenin yurt dışında yapılan çalışmalardan daha yüksek olduğu görülmektedir. Az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde SBI enfeksiyon prevalansı gelişmiş ülkelere göre daha yüksektir (15). Dolayısıyla gelişmekte olan bir ülke olduğumuzdan gelişmiş ülkelere göre mortalite oranlarımızın daha yüksek olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda, YBÜ'de *Candida* ilişkili enfeksiyon insidansı bin hasta gününde 3.7 olduğu belirlenmiştir (Tablo 1). Ülkemizde yapılan çalışmalarda, *Candida* ilişkili enfeksiyon insidansı bin hasta gününde 0,8-1,76, yurt dışında yapılmış çalışmalarda 2.1-4.5 arasında değiştiği görülmektedir (9-11, 13, 14, 16). Çalışmalar incelendiğinde, sonucumuzun ülkemizde yapılan çalışmalardan daha yüksek olduğu, yurt dışında yapılan çalışmalara ise yakın olduğu belirlendi. Hastanelerde izole edilen *Candida* türleri bölgesel değişiklikler gösterebilmektedir. *Candida* türlerinin dağılımı incelendiğinde; ülkemizdeki çalışmalarda Tukenmez ve ark. (9), iki yıl boyunca YBÜ'de hospitalize edilen, 36 kandidemi epizodu ile vaka grubu ve kandidemi gelişmeyen 37 hasta ile kontrol grubu oluşturarak retrospektif olarak yaptığı çalışmada en sık *C. albicans*'ın (n=27;%75) izole edildiğini bunu sırasıyla *C. glabrata* (n=4;%11), *C. tropicalis* (n=3;%8) ve *C. parapsilosis* (n=2;%6) türlerinin izlediğini bildirmişlerdir. Yenigün ve ark. (13), kandidemi olguları ile ilişkili risk faktörlerini belirlemek ve epidemiyolojik olarak değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada bir yıl boyunca YBÜ'de takip edilen 22.507 erişkin hastanın 38'inde *Candida* spp. izole ettiklerini bildirmişlerdir. Olgu-kontrol grupları ile yaptıkları bu çalışmada kültür örneklerine göre *Candida* türlerini retrospektif olarak incelemişlerdir ve kan kültürü örneğinde %55.2, idrar kültürü örneğinde %50 ve SVK kültür örneğinde

%43.7 oranlarında *C. albicans* türünün izole edildiğini bildirmişlerdir. Gültekin ve ark. (14), yedi yıl boyunca laboratuvara gelen 24.709 kan kültürü örneğinin 119'unda (71 hasta) *Candida* türlerini tanımladıklarını ve en sık *C. albicans*'ın (%49) izole edildiğini bunu sırasıyla *C. parapsilosis* (%23), *C. tropicalis* (%14) ve *C. guilliermondii* türlerinin izlediğini bildirmişlerdir. Sav ve ark. (21), 18 ay boyunca laboratuvara gelen 3095 klinik örneğin 1122 (%28,7)'inde *Candida* türlerini saptamışlar ve %75,6'sının *C. albicans*, %12,8'inin *C. glabrata*, %3,57'sinin *C. parapsilosis*, *C. krusei* ve *C. kefyri*'nin %2,94, *C. tropicalis* %1,17, *C. lusitania* %0,18, *C. lipolytica*, *C. norvegensis*, *C. pelliculosa* ve *C. zeylanoides*'in %0,09 oranlarında izole ettiklerini bildirmişlerdir. Yurt dışında yapılan çalışmalarda incelendiğinde; Yang ve ark. (11), 11 yıl boyunca YBÜ'de sağlık bakım ilişkili fungal enfeksiyon tanısı alan 186 hasta (516 epizod) ile yapılan cohort çalışmasında verileri retrospektif olarak değerlendirmişlerdir ve enfeksiyona neden olan *Candida* türlerini sırasıyla *C. albicans* (141 epizod), *C. tropicalis* (34 epizod), *C. glabrata* (34 epizod), *C. parapsilosis* (10 epizod) ve *C. species* (4 epizod) olarak bildirmişlerdir. Sasso ve ark. (16), yıllık ortalama 1158 hastanın yattığı YBÜ'de on yıllık verileri retrospektif olarak incelemişler ve 3557 kültür örneğinde (idrar kültüründe üreyen *Candida* türleri hariç tutulmuştur) en sık *C. albicans*'ın (%57.1) ürediğini bunu sırasıyla *C. glabrata* (%14,9), *C. tropicalis* (%9), *C. krusei* (%5,4), *C. parapsilosis* (%5,3), diğer (%4,4) ve *C. kefyri*'nin (%3,8) takip ettiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda SBI *Candida* enfeksiyonuna neden olan *Candida* türleri arasında en sık *Candida* spp. (n=22;%53,7) tanımlanırken bu sırayı *C. albicans* (n=11;%26,8), *C. tropicalis* (n=5;%12,2) ve *C. parapsilosis* (n=2;%4,9) izlediği saptanmıştır.

Çalışmamızda, MV desteği alan 17 olgunun 15'inin öldüğü belirlendi ve MV desteği olmayan grup ile kıyaslandığında; mortalitenin MV desteği olan grupta daha fazla olduğu istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (p=0,038), (Tablo 3). Yang ve ark. (11), yoğun bakım ünitesinde sağlık bakım ilişkili

fungus enfeksiyonlarının risk faktörlerini incelediği çalışmada, MV ile mortalite arasında istatistiksel açıdan anlamlı olduğunu belirtmişlerdir. Adıgüzel ve ark. (19), yoğun bakım ünitesinde *Candida* enfeksiyonunun risk faktörlerini ve mortaliteyi değerlendirdikleri çalışmada MV'ye bağlı SBİ enfeksiyonu olan hastalar ile mortalite arasında istatistiksel anlamlılık saptamışlardır. Tukenmez ve ark. (9), kandidemi olgularındaki risk faktörlerini değerlendirdiği çalışmada MV ile mortalite arasında istatistiksel anlamlılık saptamamışlardır. Ayrıca hastalarımızdan TPN tedavisi uygulanan 19 hastanın 17'sinin öldüğü belirlenmiştir. TPN tedavisi uygulanan hastaların uygulanmayan hastalara göre mortalitesinin yüksek olduğu ve bunun istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $p=0,014$ ), (Tablo 3). Adıgüzel ve ark. (19), SBİ *Candida* enfeksiyonu tanısı alan hastaların risk faktörlerini ve mortalitesini değerlendirmek amacı ile bir yıl boyunca YBÜ'de takip ve tedavi edilen 163 hastanın verilerini retrospektif olarak inceledikleri çalışmada 26 hastanın (%15,9) SBİ *Candida* enfeksiyonu tanısı aldığını, TPN tedavisi alan hasta grubunda mortalitenin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda; cinsiyet, yaş, diyaliz tedavisi, DM, KOAH, KVH, BH, ÜK ve SVK gibi risk faktörlerinin mortalite üzerine etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır (Tablo 3). Ek olarak izole edilen türlerden non-*albicans* ve *C. albicans* türlerinin de mortaliteye etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Tukenmez ve ark. (9), erkeklerde mortalitenin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Yang ve ark. (11), cinsiyet faktörünün mortalite üzerine etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Benzer çalışmalarda sağlık bakım ilişkili *Candida*

enfeksiyonu olan hastalarda yaş faktörünün mortalite üzerine etkisi değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edildiği görülmektedir (9, 11). Tukenmez ve ark. (9), çalışmada DM ve KOAH'nın mortaliteyi etkilemediğini fakat BY olan hastalarda mortalitenin anlamlı olarak arttığını belirtmişlerdir. Yang ve ark. (11), çalışmada diyaliz tedavisinin ve ÜK kullanımının mortaliteyi artırdığını bildirmişlerdir. Adıgüzel ve ark. (19), non-*albicans* üremeleri olan hastaların mortalitesinin *C. albicans* üremesi olan hastalara oranla daha fazla olduğunu saptamışlardır. Benzer çalışmaların tümünde SVK'sı olan hastaların mortalitesinin daha fazla olduğu belirtilmektedir (9, 11, 19).

## SONUÇ

*Candida*'lar vücut florasında yer almasına rağmen vücut direncinin azalması, altta yatan hastalıklar, risk faktörleri, invaziv uygulamalar gibi nedenlerden dolayı enfeksiyona neden olabilirler. Çalışmamızda hastanede yatış süresinin uzaması, MV desteği, TPN tedavisi ve *Candida* türlerinin mortaliteyi etkileyeceği sonucuna varılmıştır. YBÜ'de çalışan sağlık profesyonellerinin invaziv işlemlerde asepsiyeye uyması, doğru bir şekilde el hijyeni sağlanması, enfeksiyon kontrol önlemlerine etkin olarak uyması ile birlikte bu profesyonellere periyodik olarak eğitim verilmesi ve sağlık bakım standartlarının artırılması sonucunda SBİ *Candida* enfeksiyon insidansı ve mortalitesi azaltılabilir. Bu bağlamda, enfeksiyon kontrol hemşiresinin gözlem, denetim ve eğitim mekanizmalarını artırması ayrıca konuya ilişkin yönetimsel destek sağlanması önemli bir husustur.

## KAYNAKLAR

1. Trilla A. Epidemiology of nosocomial infections in adult intensive care units. *Intensive Care Med*, 1994; 20: 1-4.
2. Duel G, Fabry J, Nicolle L. Prevention of nosocomial infection. In: Duel G, Fabry J, Nicolle L, eds. *Prevention of hospital-acquired infections. A Practical Guide* 2nd ed. Malta: World Health Organization, 2002: 30-8.
3. Dasgupta S, Das S, Chawan NS, Hazra A. Nosocomial infections in the intensive care unit: incidence, risk factors, outcome and associated pathogens in a public tertiary teaching hospital of Eastern India. *Indian J Crit Care Med*, 2015; 19(1): 14-20.
4. Bouza E, Munoz P. Epidemiology of candidemia in intensive care units. *Int J Antimicrob Agents*, 2008; 2: 87-91.
5. Meriç M, Wilke A, Çağlayan Ç, Toker K. Intensive care unit-acquired infections: incidence, risk factors and associated mortality in a Turkish University Hospital. *Jpn J Infect Dis*, 2005; 58: 297-302.
6. Büke Ç, Sipahi OR, Taşbakan M, Yamazhan T, Arda B, Özinel MA, ve ark. İç hastalıkları yoğun bakım ünitesinde gelişen enfeksiyonların değerlendirilmesi. *İnfek Derg*, 2005;19(1):67-73.
7. Çetin ES, Kaya S, Pakbaş İ, Demirci M. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları / Microorganisms isolated from patients in intensive care units and their antibiotic susceptibilities. *İnönü Üni Tıp Fak Derg*, 2007; 14(2): 69-73.
8. Erbay H, Yalcın AN, Serin S, Turgut H, Tomatir E, Cetin B, et al. Nosocomial infections in intensive care unit in a Turkish University Hospital: a 2-years survey. *Intensive Care Med*, 2003; 29: 1482-8.
9. Tukenmez Tigen E, Bilgin H, Perk Gurun H, Doğru A, Ozben B, Cerikoglu N, et al. Risk factors, characteristics and outcomes of candidemia in an adult intensive care unit in Turkey. *Am J Infect Control*, 2017; 45: 61-3.
10. Papadimitriou-Olivgeris M, Spiliopoulou A, Fligou F, Spiliopoulou I, Tanaseskou L, Karpetas G, et al. Risk factors and predictors of mortality of candidaemia among critically ill patients: role of antifungal prophylaxis in its development and in selection of non-albicans species. *Infection*, 2017: 1-7.
11. Yang SP, Chen YY, Hsu HS, Wang FD, Chen LY, Fung CP. A risk factors analysis of healthcare-associated fungal infections in an intensive care unit: A retrospective cohort study. *BMC Infect Dis*, 2013; 13: 1-10.
12. Kuzucu Ç, Yetkin G, Çalışkan A. Bir yıl içerisinde kan kültürlerinden izole edilen candida türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıkları. *Erciyes Tıp Derg*, 2007; 29(2): 115-9.
13. Yenigün Koçak B, Kulağlu F, Doğan Çelik A, Akata F. Bir üçüncü basamak hastanesinde erişkin kandidemi olgularının epidemiyolojik özellikleri ve risk faktörlerinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*, 2011; 45(3): 489-503.
14. Gültekin B, Eyigör M, Telli M, Aksoy M, Aydın N. Yedi yıllık dönemde kan kültürlerinden izole edilen candida türlerinin retrospektif olarak incelenmesi. *Ankem*, 2010; 24(4): 202-8.
15. Sudan R. Report on the Burden of Endemic Health Care-Associated Infection Worldwide; A Systematic Review of the Literature. World Health Organization, 2011; 1-34.
16. Sasso M, Roger C, Sasso M, Poujol H, Barbar S, Lefranrnt JY, et al. Changes in the distribution of colonising and infecting candida spp. isolates, antifungal drug consumption and susceptibility in a French intensive care unit: A 10-years study. *Mycoses*, 2017; 00: 1-11.
17. Klevens RM, Edwards JR, Richards CL, Horon TL, Gaynes RP, Pollock DA, et al. Estimating health care-associated infections and deaths in U.S. Hospital, 2002. *Public Health Rep*, 2007; 122: 160-6.
18. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control*, 2008; 36: 309-32.
19. Adıgüzel N, Karakurt Z, Güngör G, Mocin Yazıcıoğlu Ö, Acartürk E, Soğukpınar Ö, et al. Mortality rates and risk factors associated with nosocomial candida infection in a respiratory intensive care unit. *Tüberküloz Toraks Derg*, 2010; 58(1): 35-43.
20. Akdoğan Ö, Ersoy Y, Kuzucu Ç, Gedik E, Yetkin F, Toğal T. Reanimasyon yoğun bakım ünitesinde gelişen kandidemi olgularının klinik özellikleri ve risk faktörlerinin araştırılması. *J Turgut Ozal Med Cent*, 2013; 20(3): 215-9.
21. Sav H, Demir G, Atalay MA, Nedret Koç A. Klinik örneklerden izole edilen candida türlerinin değerlendirilmesi. *Turk Hij Den Biyol Derg*, 2013; 70(4): 175-80.



## Gastroenterit semptomları olan olgularda adenovirüs sıklığının shell-vial hücre kültürü yöntemi ile saptanması

### Detection of adenovirus frequency in cases with gastroenteritis symptoms by shell-vial cell culture

Ayşegül AKSOY-GÖKMEN<sup>1</sup>, Candan ÇİÇEK<sup>2</sup>, Hale KALFAOĞLU<sup>3</sup>, Eylem Ulaş SAZ<sup>4</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Virüslere bağlı gastroenteritler tüm dünyada yaygındır. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde çocuklar için son derece önemli bir sağlık sorunu ve önde gelen bir mortalite sebebidir. Viral patojenler arasında rotavirüs (%25-65) ve enterik adenovirüsler (%5-15) en yaygındır. Bu çalışmada Ocak 2010 - Mart 2014 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Viroloji Laboratuvarına gastroenterit ön tanısı ile gönderilen hastaların dışkı örnekleri incelendi. Dışkı örneklerinde adenovirüs sıklığının shell-vial hücre kültürü tekniği ile belirlenmesi, yaş ve mevsimlere göre dağılımının araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** 264 akut gastroenterit ön tanılı hasta retrospektif olarak çalışmaya dahil edildi. Adenovirüs izolasyonunda shell-vial hücre kültürü yöntemi ve HEP-2 hücre dizisi (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, DSMZ, Almanya) kullanıldı. İşlemlerin tümü ikinci düzey biyogüvenlik kabinlerinde yapıldı. Her hasta için bir hücre kültürü tüpü hazırlandı. Adenovirüsün saptanmasında, iki günlük inkübasyon süresi sonunda etkene özgül floresan izotiyosyanat ile işaretlenmiş monoklonal antikor (Light Diagnostic,

#### ABSTRACT

**Objective:** Gastroenteritis which is caused by viruses are common all over the world. It is a very important health problem and a leading cause of mortality for children in developed and developing countries. Among the viral pathogens, rotavirus (25-65%) and enteric adenovirus (5-15%) are the most common. In this study, stool specimens of patients sent to Ege University Medical Faculty Medical Microbiology Department Virology Laboratory between January 2010 and March 2014 for pre-diagnosis of gastroenteritis were examined. It is aimed to determine the frequency of adenovirus in stool specimens by shell-vial cell culture technique and to investigate its distribution according to age and season.

**Methods:** A retrospective study of 264 patients with acute gastroenteritis were included in the study. The shell-vial cell culture method and HEP-2 cell line (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, DSMZ, Germany) were used for adenovirus isolation. All of the operations were done in second level biosecurity cabinets. A cell culture tube was prepared for each patient. In the detection of adenovirus, monoclonal antibody (Light Diagnostic, Millipore, USA) labeled with effect specific fluorescein isothiocyanate was used at the

<sup>1</sup>İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

<sup>3</sup>Buca Seyfi Demirsoy Devlet Hastanesi, İzmir

<sup>4</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir



**İletişim / Corresponding Author :** Ayşegül AKSOY-GÖKMEN

İzmir Katip Çelebi Üni. Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Karabağlar 35000 İzmir - Türkiye

Tel : +90 542 357 20 16

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

Geliş Tarihi / Received : 05.01.2018

Kabul Tarihi / Accepted : 29.07.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.38233

Aksoy-Gökmen A, Çiçek C, Kalfaoğlu H, Saz EU. Gastroenterit semptomları olan olgularda Adenovirüs sıklığının shell-vial hücre kültürü yöntemi ile saptanması. Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(2): 177-182

Millipore, ABD) kullanıldı. Floresan mikroskopta (Olympus BX50, Japonya) 20X ve 40X büyütmede değerlendirildi. En az iki veya daha fazla sayıda hücrenin tipik elma yeşili floresans verdiği örnekler pozitif olarak kabul edildi.

**Bulgular:** Akut gastroenterit ön tanısı ile çalışmaya dahil edilen 264 hastanın 190'ı çocuk (%72), 74'ü (%28) erişkindi. Viroloji laboratuvarına gönderilen 264 dışkı örneğinin 13 (%4.9)'ünde shell-vial hücre kültürü tekniği ile adenovirüs pozitifliği bulundu (Şekil 1). Pozitif bulunan örneklerin tümü 18 yaş altı hastalardı. Olguların 111'i kadın (%42), 153'ü erkek (%58) idi. Adenovirüs pozitifliği oranı açısından cinsiyetler arasında anlamlı fark bulunamadı ( $p>0.05$ ). Mevsimsel sıklık açısından dışkıda shell vial hücre kültürü yöntemiyle adenovirüs pozitifliği en düşük (%0.4) yaz aylarında, en yüksek kış aylarında bulundu.

**Sonuç:** Bölgemizde gastroenterit vakalarında enterik adenoviral etkenin de rutin olarak araştırılması gerektiğini düşünüyoruz, ayrıca altın standart yöntem olan hücre kültürü ile yapılan çalışmamızdan elde edilen veriler epidemiyolojik verilere katkı sağlamaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Gastroenterit, adenovirüs, shell-vial hücre kültürü

end of the two-day incubation period. The fluorescence microscope (Olympus BX50, Japan) was evaluated at 20X magnification and 40X magnification. Specimens that gave at least two or more of the cells a typical apple green fluorescence were considered positive.

**Results:** Of the 264 patients included in the study with acute gastroenteritis pre-diagnosis, 190 (70%) were children (72%) and 74 (28%) were adults. 13 (4.9%) of the 264 stool samples sent to the virology laboratory had adenovirus positivity with the shell-vial cell culture technique. All positive samples were under 18 years of age. Of the cases, 111 were female (42%) and 153 were male (58%). There was no significant difference between genders in terms of adenovirus positive rate ( $p>0.05$ ). In terms of seasonal frequency, adenovirus was found to be the lowest in summer (0.4%) and the highest in winter (by shell vial cell culture in stool).

**Conclusion:** Although we think that enteric adenoviral agent should be investigated routinely in the gastroenteritis cases in our region, the data obtained from our work done with cell culture, which is the gold standart method, contribute to the epidemiological data.

**Key Words:** Gastroenteritis, adenovirus, shell-vial cell culture

## GİRİŞ

Akut gastroenteritler (AGE), gelişmiş ülkelerde yüksek morbidite, gelişmekte olan ülkelerde ise yüksek mortalite ile ilişkilidir. Tüm dünyada viral etyolojili gastroenteritler yaygın olup, özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde çocuklar için son derecede önemli bir sağlık sorunudur(1, 2). Akut gastroenterit etiyojisinde viral patojenler arasında ilk sırada rotavirüs (%25-65) ve enterik adenovirüsler (%5-15) yer almakta ve bunu takiben diğer viral etkenler olan norovirüs ve astrovirüsler bulunmaktadır (2, 3). Dünyada, rotavirüs ve adenovirüse bağlı yılda 150 milyon gastroenteritli vaka olduğu, bunların

800.000'inin ölüme sonuçlandığı bildirilmektedir (3). Enterik adenovirüsler en çok iki yaş altında görülmekte olup, çocuk ishallerinin %5-20'siyle ilişkilidir (1, 4). Adenovirüsler çift sarmallı çıplak DNA virüsüdür ve A'dan G'ye kadar yedi alt cins altında toplanan 52 farklı serotip ile insanlarda çeşitli enfeksiyonlara yol açabilmektedirler. Bağırsak enfeksiyonlarına çoğunlukla adenovirüs serotipleri 40 ve 41 (F türü) neden olur (5). Adenovirüse bağlı AGE'ler yılın tüm aylarında sıklıkla görülebilmektedir. Adenovirüs enfeksiyonları, klinik olarak laboratuvar testleri olmadan diğer bakteriyel

ve viral gastroenteritlerinden ayrılamaz. Adenovirüs enfeksiyonu tanısı, virüs izolasyonu, viral antijen ya da viral genomun saptanması gibi direkt yöntemlerle yapılabilmektedir (5-7). Rutinde Adenoviral gAGE tanısında hızlı tanı kitleri (immünokromotografik kasetler) kullanılmaktadır. Bu testlerde, duyarlılık ve özgüllük farklı oranlarda bildirilmektedir. Tanıda altın standart yöntem hücre kültürüdür ancak deneyimli uzman kişilere ve ekipmana ihtiyaç olduğundan, hızlı ve duyarlı olan moleküler yöntemler tanıda daha çok tercih edilmektedir (8).

Bu çalışmada, AGE tanılı hastaların dışkı örneklerinde adenovirüs sıklığının shell-vial hücre kültürü tekniği ile belirlenmesi, yaş ve mevsimlere göre dağılımının araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Ocak 2010-Mart 2014 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Viroloji Laboratuvarına adenovirüs hücre kültürü isteğiyle gönderilen 264 akut gastroenterit ön tanılı hasta retrospektif olarak çalışmaya dahil edildi. Adenovirüs izolasyonunda, shell-vial hücre kültürü yöntemi ve HEp-2 hücre dizisi (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, DSMZ, Almanya) kullanıldı. İşlemlerin tümü ikinci düzey güvenlik

kabinlerinde yapıldı. Her hasta için bir hücre kültürü tüpü hazırlandı. Adenovirüsün saptanmasında, iki günlük inkübasyon süresi sonunda etkene özgül floresan izotiyosiyanat ile işaretlenmiş monoklonal antikor (Light Diagnostic, Millipore, ABD) kullanıldı. Örnekler floresan mikroskopta (Olympus BX50, Japonya) 20X ve 40X büyütmede değerlendirildi. En az iki veya daha fazla sayıda hücrenin tipik elma yeşili floresans verdiği örnekler pozitif olarak kabul edildi.

## BULGULAR

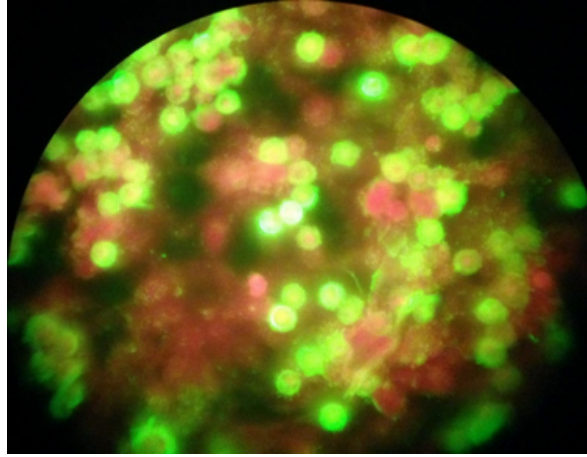
Çalışmaya alınan 264 hastanın 190 (%72)'ı çocuk (0-18 yaş), 74 (%28)'ü erişkin (18-86 yaş). Hastaların ortanca yaşı 6.5 (0-86) yıldı. Olguların 111'i kadın (%42), 153'ü erkek (%58) hasta idi. Shell-vial hücre kültürü tekniği ile 264 dışkı örneğinin 13 (%4.9)'ünde adenovirüs pozitifliği bulundu (Tablo 1). Adenovirüs pozitifliği saptanan hastaların yedi'si erkek altı'sı kızdı ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p>0.05$ ). Adenovirüs shell vial pozitifliği mevsimsel olarak değerlendirildiğinde ise kış mevsiminde 161 hastanın 7'sinde (%2.65), ilkbahar mevsiminde 43 hastanın 2' sinde (%0.75), yaz mevsiminde 22 hastanın 1'inde (%0.4), sonbahar mevsiminde 38 hastanın 3'ünde (%1.1) pozitiflik tespit edildi (Tablo 2). En fazla pozitiflik kış mevsiminde

**Tablo 1.** Adenovirüs shell vial hücre kültürü yöntemiyle pozitif saptanan hastaların özellikleri

Hasta No	Cinsiyet	Yaş	Örneklerin Toplandığı Dönem
1	E	48 ay	Kış
2	K	50 ay	Kış
3	E	72 ay	Kış
4	E	60 ay	Kış
5	K	24 ay	Kış
6	K	44 ay	Kış
7	E	52 ay	Kış
8	K	30 ay	İlkbahar
9	K	18 ay	İlkbahar
10	E	30 ay	Yaz
11	E	52 ay	Sonbahar
12	K	28 ay	Sonbahar
13	E	34 ay	Sonbahar

**Tablo 2.** Adenovirüs shell vial hücre kültürü istemiyle gönderilen hastaların mevsimsel dağılımı

Mevsim	Pozitif	Negatif	Toplam
Kış	7 (%2.65)	154 (%58.3)	161
İlkbahar	2 (%0.75)	41 (% 15.5)	43
Yaz	1 (% 0.4)	21 (% 8)	22
Sonbahar	3 (%1.1)	35 (% 13.3)	38
<b>Toplam</b>	<b>13 (%4.9)</b>	<b>251 (% 95.1)</b>	<b>264</b>

**Şekil 2.** Shell vial hücre kültürü yönteminde Hep-2 hücresinde adenovirüs pozitifliği görünümü

görülse de adenovirüs shell vial pozitifliği açısından mevsimsel olarak anlamlı fark yoktu ( $p>0,05$ ).

### TARTIŞMA

Enfeksiyöz gastroenteritlerde, hastada malnütrisyon, bağışıklık sistemi sorunları, yeni doğan, prematüre bebeklerde, organ nakli hastalarında, eklem veya kalp kapakçığı protezi olan kişilerde gastroenterit kliniği ağır seyrettiğinden mortalite ve morbiditeyi olumsuz etkilemektedir. Bu nedenlerle bu olgularda hızlı ve güvenilir şekilde laboratuvar tanısının koyulması mortalite ve morbiditeyi azaltarak prognozu olumlu etkilemektedir (8, 9).

Adenovirüs tanısında, sıklıkla dışkıda rotavirüs antijen pozitifliğini de beraberinde gösteren immünokromotografik kaset testler kullanılmaktadır. Dışkı örneklerinde adenovirüs pozitifliği ülkemizde

farklı sıklıkta bildirilmektedir. İmmünokromotografik kaset test yöntemi ile adenovirüs serotip 40 ve 41 insidansını araştıran Isparta merkezli bir çalışmada; 3206 dışkı örneğinin 102 (%3.2)'sinde adenovirüs antijeni saptanmıştır. Pozitif bulunan hastaların %82.3'ü 0-5 yaş arası çocuklar olduğu ve olguların yılın her mevsiminde benzer sıklıkta dağıldığı bildirilmiştir (7). Kocaeli'de yapılan immünokromotografik yöntemin kullanıldığı başka bir çalışmada; 1069 dışkı örneğinin %2.9'unda ( $n=31$ ) adenovirüs saptanmış ve bu enfeksiyonların %52.2'sinin kış aylarında olduğu tespit edilmiştir (9). Konya ilinden bildirilen başka bir çalışmada ise aynı yöntemle 5156 dışkı örneğinin 120 (%2.3)'ünde adenoviral antijenler saptanmıştır (4). Konya'da yapılan yine başka bir çalışmada ise ishallerde çocuklarda immünokromotografik kaset testi ile adenovirüs pozitifliği %10,4 oranında bulunmuştur (10). Aynı ilden bildirilen bu çalışmalar arasındaki

farklı hasta popülasyonu ve kullanılan kromotografik kaset testin duyarlılık ve özgüllüklerinin farklı olmasından kaynaklanabilir. Farklı yayınlarda adenovirüs enfeksiyon oranları, yurtiçi çalışmalarda %4.4-16.2, yurtdışı çalışmalarda %2.4-22.2 arasında değişmektedir (11). Bu çalışmada shell-vial hücre kültürü tekniği ile örneklerin %4.9'unda pozitiflik saptandı. Bu oran ülkemizde bildirilen birçok çalışma ile benzer olduğu belirlendi.

Dışkıda hücre kültürü tekniği ile adenovirüslerin tespiti özgüllük oranı kaset testlerden daha yüksek olup moleküler testler ile birlikte referans test olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte kaset testler bir saat içerisinde sonuç verirken hücre kültüründe bu süre birkaç günü bulabilmesi hücre kültürünün dezavantajıdır. Adenovirüs enfeksiyonlarının tanısında shell vial yöntemiyle virüs izolasyonu klasik hücre kültüründeki gibi sitopatik etkinin oluşması beklenmediği için daha erken tanı sağlamakta, ayrıca floresan-ışaretili monoklonal antikoların kullanılması virüsün tanımlanmasını kolaylaştırmaktadır. Ancak klasik hücre kültürü ile karşılaştırıldığında duyarlılığının daha düşük (%90'a karşı %83) olduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte inkübasyon süresi iki günden beş güne uzatıldığında duyarlılığın arttığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (6, 12).

Adenoviral AGE sıklığı oranları ile ilgili olarak ülkemizin çeşitli illerinden bildirilen bu farklı oranların en önemli nedeni enfeksiyonun mevsimsel olarak değişiklik göstermesi, kullanılan yöntemin duyarlılığı ve araştırma yapılan bölgenin sosyoekonomik ve kültürel özelliklerine bağlı olabilir. Bununla birlikte ülkemizde adenovirüs epidemiyolojisinin tespitinde hücre kültürünün kullanıldığı araştırmalar azdır.

Adenovirüs enfeksiyonlarının büyük çoğunluğu iki

yaşın altındaki çocuklarda meydana gelir (8). Yapılan seroepidemiolojik çalışmalar, dört yaşın altındaki çocukların çoğunluğunun bir kez bu enfeksiyonu geçirdiğini göstermektedir (13). Tuncer ve ark.'nın (8) adenovirüslere bağlı gastroenteritli hastalarla ilgili yaptığı bir çalışmada, en küçüğü 26 günlük en büyüğü dört yaşında olmak üzere olguların %90'ının iki yaş altında olduğunu saptanmıştır. Bu çalışmada; pozitiflik saptanan en büyük olgu 72 ay, en küçüğü ise 18 aylıktı. Yapılan çalışmalarda, genel olarak adenoviral AGE sıklığında cinsiyet açısından bir fark olmadığı bildirilmektedir (7, 8, 10). Jarecki-Khan ve ark. (14) erkek çocuklarda adenovirüs 40 ve 41 enfeksiyonunu kız çocuklardan iki kat daha yüksek oranda bulunmuştur. Bu çalışmada da her iki cinsiyet arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).

Adenovirüs yönünden pozitif olgular ise çalışmalarla uyumlu olarak tüm yıl boyunca görülmüştür (8, 15). Kandemir ve ark.'larının (16) yaptığı çalışmada, en yüksek pozitiflik %8 ile ilkbahar mevsiminde görülürken, ülkemizden farklı iki çalışmada ise en yüksek pozitiflik oranı yaz mevsiminde görülmüştür (17, 18). Kanada'da yapılan çalışmada ise mevsimsel olarak farklılık görülmediği bildirilmiştir (19). Japonya'da on yılı aşkın bir sürede yapılan çalışmada en sık kış aylarında adenovirüs pozitifliği görülmüştür (20). Bu çalışmada, adenovirüs pozitifliği en çok kış mevsiminde görülse de adenovirüs pozitifliği açısından mevsimsel olarak anlamlı fark görülmedi.

Sonuç olarak gastroenterit vakalarında enterik adenoviral etkenin de rutin olarak araştırılması gerektiğini düşündürmekle birlikte altın standart yöntem olan hücre kültürü ile yapılan çalışmamızdan elde edilen veriler epidemiyolojik verilere katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Çaycı YT, Yılmaz G, Birinci A. Akut gastroenterit vakalarında rotavirüs ve adenovirüs sıklığının araştırılması. Pamukkale Tıp Derg, 2017;10 (1) : 61-65.
2. Özer T, Yula E, Devenci Ö, Tekin A, Durmaz S, Gülenç M, et al. Frequency of rotavirus and enteric adenoviruses among children with acute gastroenteritis in a district hospital. J Microbiol Infect Dis 2015; 1: 64-67.
3. Ferreira MS, Xavier Mda P, Tinga AC, Rose TL, Fumian TM, Fialho AM, et al. Assessment of gastroenteric virüs frequency in a children's day care center in Rio De Janeiro, Brazil: a fifteen year study (1994-2008). PLOS One, 2012; 7 (3) :e33754.
4. Tüzüner U, Gulcen BS, Ozdemir M, Feyzioğlu B. Gastroenteritli çocukların dışkılarında adenovirüs ve rotavirüs sıklığı ve mevsimsel dağılımı. Klimik ,2016; 29 (3): 121-4.
5. Kim J, Kim HS, Kim JS, Song W, Lee KM, Lee S, et al. Evaluation of an immunochromatographic assay for the rapid and simultaneous detection of rotavirüs and adenovirus in stool samples. Ann Lab Med, 2014; 34(3): 216-222.
6. Hematian A, Sadeghifard N, Mohebi R, Taherikalani M, Nasrolahi A, Amraei M, Ghafouriana S. Traditional and modern cell culture in virus diagnosis. Osong Public Health Res Perspect, 2016; 7 (2): 77-82.
7. Akpınar Ö, Akpınar H. Investigation of the enteric adenovirus antigen frequency by immunochromatographic method in children with acute gastroenteritis. Meandros Med Dent J ,2017;18: 86-9.
8. Tuncer S, Ceyhan M, Yurdakök K, Kanra G, Ustaçelebi S. İnsan adenovirüslerinin restriksiyon endonükleaz analizi ile tiplendirilmesi ve çocuk gastroenteritlerinde enterik adenovirus sıklığının belirlenmesi. Flora, 1997; 3:195-207.
9. Yazıcı V, Manzur Y, Aynur Akbulut. Akut gastroenteritli olgularda rotavirüs ve enterik adenovirüs infeksiyonlarının sıklığının araştırılması. Klimik, 2013; 26 (1): 13-6.
10. Çelik AY, Emiroğlu M, Kurtoğlu MG, İnci A, Odabaş D. Akut gastroenteritli 0-5 yaş arası çocuklarda viral etkenlerin sıklığının araştırılması. Türkiye Çocuk Hast Derg, 2016; 2: 101-6.
11. İnan N, Kabakoğlu Ünsür E, Demirel A, Mamçu D, Sönmez E, Arısoy A. Akut viral gastroenterit ön tanıli vakalarda rotavirüs, adenovirüs ve nörovirüs sıklığının araştırılması. Ankem, 2014; 28 (1): 14-9.
12. Sağlık İ, Mutlu D, Öngüt G, Güney SV, Özkul A, Öğünç D, Çolak D. Alt solunum yolu enfeksiyonu olan çocuklarda adenovirüslerin araştırılması. Mikrobiyol Bul, 2013; 47 (2): 282-294.
13. Foy HM. Adenoviruses In: Evans AS, (ed). Viral Enfections of Humans. . Plenum Pub Corp, 3rd ed. 1989;77-94.
14. Jarecki-Khan K, Tzipori SR, Unicomb LE. Enteric adenovirus infection among infants with diarrhea in rural Bangladesh. J Clin Microbiol, 1993; 31 (3) :484-9.
15. Çelik AY, Emiroğlu M, Kurtoğlu MG, İnci A, Odabaş D. Akut gastroenteritli 0-5 yaş arası çocuklarda viral etkenlerin sıklığının araştırılması. Türkiye Çocuk Hast Derg, 2016; 2: 101-6.
16. Kandemir İ, Atalay MA, Delice S, Taş SK, Gökahmetoğlu S. Gastroenteritli çocuklarda enterik adenovirüs antijenleri. Turk J Immunol, 2014; 2 (1): 1-4.
17. Biçer S, Şahin G.T, Koncay B, Gemici H, Engerek N, Ulucaklı Ö, Özlü N, Şiraneci R. Çocuklarda Adenovirüs Gastroenteriti Olgularının Sıklığı. Bakırköy Tıp Dergisi Araştırmalar, 2009; 5: 6-10.
18. Gültepe B, Yaman G, Çıkman A, Güdücüoğlu H. Çocukluk yaş grubu gastroenteritlerde rotavirüs ve adenovirüs sıklığı. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 1012; 42: 16-20.
19. Dey SK, Hoq I, Okitsu S. Prevalance, seasonality and peak age of infection of enteric adenoviruses in Japan, 1995-2009. Epidemiol Infect, 2013; 141: 958-60.
20. Pang XL, Preiksatis JK, Lee BE. Enhanced enteric virus detection in sporadic gastroenteritis using a multi-target real time PCR panel: A one-year study. J Med Virol, 2013; 1594-1601.

## Genetic polymorphism of BMP-6 gene (rs267196 and rs267192) in patients with ankylosing spondylitis

### Ankilozan spondilitli hastalarda BMP-6 (rs267196 ve rs267192) genetik polimorfizmi

Özlem ÖZTOPUZ<sup>1</sup>, Fatma SILAN<sup>2</sup>, Özlem COŞKUN<sup>1</sup>, Ayla AKBAL<sup>3</sup>

#### ABSTRACT

**Objective:** Bone morphogenetic proteins (BMPs) have been documented to be associated with ankylosing spondylitis (AS) in several populations. The goal of the present study was to determine the association of the (BMP-6) gene polymorphism (rs267192 and rs267196) with AS and to evaluate the relationships between them based on clinical and laboratory data.

**Methods:** This study was conducted during August and November 2013 at the physical therapy and rehabilitation outpatient clinics of Çanakkale Onsekiz Mart University Research and Practice Hospital. 42 AS patients and 58 healthy controls were checked with reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis for BMP-6 (rs267192 and rs267196) polymorphism. Clinical data as age, gender, body mass index, C-reactive protein (CRP), erythrocyte sedimentation rate, bath ankylosing spondylitis disease activity index (BASDAI), and HLA-27 positivity were assessed. It was evaluated the relationship between the BMP-6 polymorphism and laboratory findings.

**Results:** The frequencies of AA, AT, and TT genotypes for BMP-6 rs267196 were 9.5% (n=4), 38.1% (n=16), and 52.4% (n=22) in AS patients, and 15.5%

#### ÖZET

**Amaç:** Kemik morfogenetik proteinlerinin (BMP'ler) çeşitli popülasyonlarda ankilozan spondilit (AS) ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmanın amacı, (BMP-6) gen polimorfizminin (rs267192 ve rs267196) AS ile ilişkisini belirlemek ve aralarındaki ilişkileri klinik ve laboratuvar verilerine dayanarak değerlendirmektir.

**Yöntem:** Bu çalışma, Ağustos 2013 - Kasım 2013 tarihleri arasında Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Polikliniğinde gerçekleştirilmiştir. 42 AS hastası ve 58 sağlıklı kontrol BMP-6 (rs267192 ve rs267196) polimorfizmi için ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) analizi ile kontrol edilmiştir. Klinik veriler olarak yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, C-reaktif protein (CRP), eritrosit sedimentasyon hızı, bath ankilozan spondilit hastalık aktivite indeksi (BASDAI) ve HLA-27 pozitifliği araştırılmıştır. BMP-6 polimorfizmi ile laboratuvar bulguları arasındaki ilişki değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** BMP-6 rs267196 için sırasıyla AA, AT ve TT genotiplerinin sıklığı AS hastalarında %9,5 (n= 4), %38,1 (n= 16) ve %52,4 (n= 22) ve kontrol grubunda %15,5

<sup>1</sup>Canakkale 18 Mart University, Faculty of Medicine, Department of Biophysic, Canakkale

<sup>2</sup>Canakkale 18 Mart University, Faculty of Medicine, Department of Medical Genetic, Canakkale

<sup>3</sup>Canakkale 18 Mart University, Faculty of Medicine, Department of Physical Medicine and Rehabilitation, Canakkale



#### İletişim / Corresponding Author : Özlem ÖZTOPUZ

Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Ana Bilim Dalı, Çanakkale - Türkiye  
Tel : +90 532 585 11 12 E-posta / E-mail : ozlemoztopuz@yahoo.com.tr

Geliş Tarihi / Received : 24.07.2018  
Kabul Tarihi / Accepted : 19.12.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.91979

Öztopuz Ö, Silan F, Coşkun Ö, Akbal A. Genetic polymorphism of BMP-6 gene (rs267196 and rs267192) in patients with ankylosing spondylitis. Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(2): 183-194

(n=9), 44.8% (n=26), and 39.7% (n=23) in controls respectively. BMP-6 rs267196 A allele carriers (versus T ancient allele) had 1.4-fold higher risk and rs267192 T allele carriers (versus C ancient allele) had 1.08-fold higher risk for AS. There was no significant difference between AS and control groups in terms of age, gender and BMI. The CRP and sedimentation levels of the AS group were significantly higher than the control group ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** Although some studies have suggested BMP-6 polymorphisms as a possible risk factor for AS, BMP-6, rs267196 and rs267192 alleles were not associated with the disease risk in this study groups.

**Key Words:** Ankylosing spondylitis (AS), polymorphism, bone morphogenetic protein 6 (BMP-6)

(n = 9), %44,8 (n= 26) ve %39,7 (n = 23) bulunmuştur. BMP-6 rs267196 A allel taşıyıcılar (T alelline karşı) 1,4 kat daha yüksek risk ve rs267192 T allel taşıyıcıları (C alelline karşı) AS için 1,08 kat daha yüksek risk taşıdığı görülmüştür. AS ile kontrol grupları arasında yaş, cinsiyet ve BMI değerleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. AS grubunun CRP ve sedimantasyon düzeyi kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ( $p < 0,001$ ).

**Sonuç:** Bu çalışmalar sonucunda; BMP-6 polimorfizmi AS için olası bir risk faktörü olarak önerilmesine rağmen BMP-6, rs267196 ve rs267192 allelleri çalışma grubumuzdaki hastalık riski ile ilişkili bulunmamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Ankilozan spondilit (AS), polimorfizm, kemik morfogenetik proteini (BMP-6)

## INTRODUCTION

Ankylosing spondylitis (AS) is a highly heritable chronic inflammatory disease, which leads to the fusion of sacroiliac and intervertebral joints (1). The disease, which causes AS patients to suffer from a decreased quality of life, is observed more frequently in people at the age of 15 through 35 years and more common in male than female patients. Although the pathophysiology of AS is unknown, it is considered as a polygenic disease. Studies intended to reveal its mechanism have focused on the identification of pathogenic factors, mediators of inflammation and regulators of the disease process. Inflammation caused by the interaction of genetic factors along with various environmental factors is thought to cause damage to the synovial membrane, bones, entheses sites, and extraarticular tissues such as eye and gastrointestinal mucosa (2). Genetics of AS is advancing rapidly and contributes to our understanding of the etiopathogenesis of the disease. The contribution of genetic effects to the pathogenesis

of AS is greater than to other autoimmune-related diseases, such as systemic lupus erythematosus (SLE) and rheumatoid arthritis (RA). To date, > 40 genetic variants have been identified, including (human leukocyte antigen) HLA alleles, such as HLA-B27, which affect the risk of developing AS (3). HLA-B27 is the major genetic risk factor and biological marker for AS and more than 80% of cases are positive for the HLA-B27, but many studies suggest that AS is kept under the control by multiple modifier genes and gene-gene interactions (1, 4). Genes regulating the pathogenesis of the disease include HLA-B27, ERAP1 (endoplasmic reticulum amino peptidase 1), IL-23 R (interleukin23 receptor), IL-1R2 (interleukin receptor 1, type 2), and ANTXR2 (anthrax toxin receptor), also known as capillary morphogenesis protein 2 (CMG2) (3, 5). There is strong evidence on the role of the IL-23 pathway in the pathogenesis of AS. Other pathways associated with AS include the innate and adaptive immune cell differentiation and



activation of the peptide and gut microbiota. The determination that patients with AS have a different intestinal microbiome is consistent with the theories arising from IL-23-induced interactions between the intestinal microbiome and the host immune system (3).

Genetic studies have developed considerably over the last century and genetic-based approaches to understanding human diseases are changing with technological development. Besides, bone morphogenetic proteins (BMPs) are a group of inflammatory molecules and involved in the superfamily of transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ). BMPs are synthesized from large dimeric proteins in the cytoplasm. Highly conserved molecules and C-terminal peptides are bound to the membrane receptor in target cells and released into extracellular tissues (6). They can induce tissue development and joint morphogenesis participate in embryonic development, cell line determination and osteoblastic differentiation in many aspects(7). BMPs are important growth factors for cartilage and bone homeostasis and may cause chondrocyte hypertrophy, which causes joint fusion and plays a role remodelling in AS joints. Clinical studies have suggested that there is a relationship between skeletal system diseases, BMP pathway and inflammatory process (8). BMP-6 is incorporated into the inflammatory period and promotes osteoblast differentiation from mesenchymal stem cell (9). BMP-2 and BMP-7 have been reported to be overproduced in AS patients. The mechanism of new bone formation in AS is not fully described and it appears that BMP plays an significant role in spinal ankylosis and possibly in a therapeutic target (10). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) within BMP-6 are related to ossification. There are few studies on BMP-6 polymorphisms in patients with AS (4, 11, 12). In the Korean society, a large sample study by Joo et. al. (4), showed that BMP-6 gene polymorphism was related to radiographic progression in patients suffering from AS. BMP levels have been showed to vary in AS patients. Some

studies reported increased BMP levels in the sera of AS patients, while others level no increase (10, 12). Besides, some SNPs are thought to be associated with its diagnosis, progress, and identification of its risks (13). The aim of this study was to investigate the role of BMP-6 polymorphism (rs267192 and rs267196) in patients with AS and to evaluate the relationships between them based on clinical and laboratory data.

## MATERIAL and METHOD

In this case-control study, 42 patients with AS were recruited from the Department of Physical Medicine and Rehabilitation at Çanakkale Onsekiz Mart University (COMU) Research and Practice Hospital, using the Assessment of Spondyloarthritis International Society (ASAS) criteria (14). Clinical data included age, gender, body mass index, C-reactive protein (CRP), erythrocyte sedimentation rate, Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI), and HLA-27 positivity. 58 controls were selected from the healthy patients, who were negative according to the AS diagnostic criteria. Ethical approval was received from the local ethics committee of Çanakkale Onsekiz Mart University (Date: October 31, 2013 Ref#: 050.99-317). Written informed consents were obtained from all the participants.

### Genotyping Assay

Peripheral blood samples were collected in EDTA-containing tubes and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until the analysis. DNA was isolated from the blood samples by spin column method with the High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche). To examine BMP-6 (rs267192 and rs267196) polymorphism, the total reaction, 10  $\mu\text{L}$ , consisted of a specific primer probe (LIGHTSNIP BMP-6, rs267196 (Cat#: 07414161001- TIB MOLBIOL GmbH) and RS267192 (Cat#: 07414145001 TIB MOLBIOL GmbH), FastStart DNA Master HybProbe master mix (cat#:12239272001-Roche) and DNA. Quantitative Real-Time PCR outline was monitored using a Light Cycler 2.0 (Roche, Germany). Denaturation

was performed at 95°C for 10 min, quantitation was carried out with 45 cycles at 95°C for 10 sec, 60°C for 10 sec, and 72°C for 15 sec, and melting was conducted at 95°C for 20 sec, 40°C for 20 sec and 85°C in 0.2 continuous mode, with cooling at 40°C. A and T alleles for rs267192, C and T alleles for rs267196 were analyzed with the melting curve analysis at channel 530 after the employment of RT PCR. The study was carried out in Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Medicine, Medical Genetic Laboratory.

### Statistical analysis

The SPSS (Statistical Packages of Social Sciences, SPSS for Windows, Version 20.0, Chicago, IC, USA) was utilized for data analysis. Mean, standard deviation, median, minimum and maximum values, frequency, and percentage were used to present the descriptive data. To analyze the data, the parametric Independent Samples t-test and ANOVA test and the non-parametric Mann-Whitney U test and Kruskal Wallis Variance Analysis test were used according to the results of the tests of normality ( $n > 50$ , Kolmogorov-Smirnov,  $n < 50$ , Shapiro-Wilk). Chi-square test was used to analyze the categorical data. Kolmogorov Smirnov-Z test was used to reveal the differences in HLA-B27 positivity in consideration of the BMP-6 (rs267196 and rs267192 genotypes). A p-value below 0.05 was considered statistically significant.

The major allele frequency model of rs267192 and rs267196 polymorphism has been taken as a reference for the association of AS with SNP alleles. OR value and 95% confidence intervals were calculated for the reference allele of the predicted minor allele that might be associated with the disease.

In the studied groups, homozygous genotypes common to the control group were identified and taken as a reference, and the association of AS with SNP genotypes was performed. OR values and 95% confidence intervals were calculated in consideration of the dominant mode (e.g., GT + TT and GG) Medcalc

statistical software program. The relationship between the scores of BASDAI was investigated by correlation analyses.

## RESULTS

Demographic and clinical features of the AS and control group are shown in Table 1, 2. No significant differences between AS and control groups were observed in terms of age, gender, and BMI values. Male and female participants in the AS group accounted for 61.9% and 16%, respectively, while 48.3% of the control group was male and the remaining 51.7% was female. CRP and sedimentation level of the AS group was significantly higher than that of the control group ( $p < 0.001$ ).

We genotyped two polymorphisms of BMP-6 (rs267192 and rs267196) in the 42 patients with AS and 58 control subjects. p and OR values were calculated to correlate the AS and SNP alleles. The frequencies of alleles and genotypes of BMP-6 were evaluated (rs267196 and rs267192) by allele counting methods (Figure 1).

In the control group, nine participants (15.5%) were homozygous for the BMP-6 rs267196 (AA genotype), 26 (44.8%) were heterozygous (AT genotype), while no mutation (TT genotype) was detected in 23 (39.7%). In the AS group, the breakdown of the AA, AT, and TT genotypes was 4 (9.5%), 16 (38.1%), and 22 (52.4%), respectively (Table 3).

The BMP-6 rs267196 allele frequencies for A and T alleles in AS group were calculated to be 28.6% ( $n=24$ ) and 71.4% ( $n=60$ ), respectively (Figure 2). The allele frequencies in the control subjects, on the other hand, were found to be 45.8% ( $n=44$ ) and 54.2% ( $n=52$ ), respectively. The T wild allele frequency was similar in the two groups ( $p=0.58$ , OR=1.40, CI (95%)=0.43 - 4.51). BMP-6 rs267192 allele frequencies for C and T alleles in AS group were 74.4% ( $n=64$ ) and 25.6% ( $n=22$ ), respectively, whereas C and T allele frequencies in the control group subjects accounted

**Table 1.** Demographic and clinical characteristics of the participants

Variables	AS group (n=42)		Control group (n=58)		p value
	Mean ± SD	Median (Min-Max)	Mean ± SD	Median (Min-Max)	
Age (years)	40.14±9.36	38.50 (25.00-60.00)	38.47±8.60	38.00 (23.00-57.00)	0.399*
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27.37±5.57	26.90 (18.00-44.00)	26.21±3.43	25.75 (20.00-35.00)	0.245**
CRP (mg/L)	1.11±1.14	0.94 (0.10-7.05)	0.30±0.16	0.28 (0.10-0.80)	<0.001*
Sedimentation (mm/h)	32.05±20.02	30.00 (7.00-79.00)	13.55±7.09	13.50 (2.00-35.00)	<0.001*
BASDAI	3.52±1.95	3.55 (0.00-8.10)	-	-	

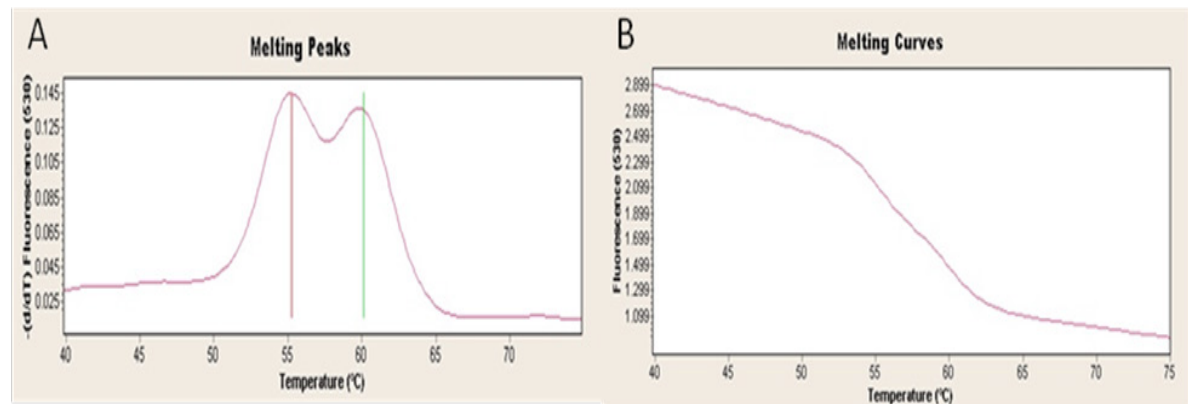
BASDAI: Bath ankylosing spondylitis activity index SD: Standard deviation

p\*: Mann-Whitney U test \*\*: Independent Samples t-test -: BASDAI determined only in AS group

**Table 2.** The number and percentage of gender in the study groups, HLA-B27 positive and negative number percentages in the AS patient group

Variables	AS group (n=42)%	Control group (n=58) %	p value
Male	26 (61.9)	28 (48.3)	0.252
Female	16 (38.1)	30 (51.7)	
<b>HLAB27</b>			
HLAB27 Positive	33 (80.5)	-	
HLAB27 Negative	8 (19.5)	-	

p: Chi-square test, -: HLAB27 was determined only in the AS group.

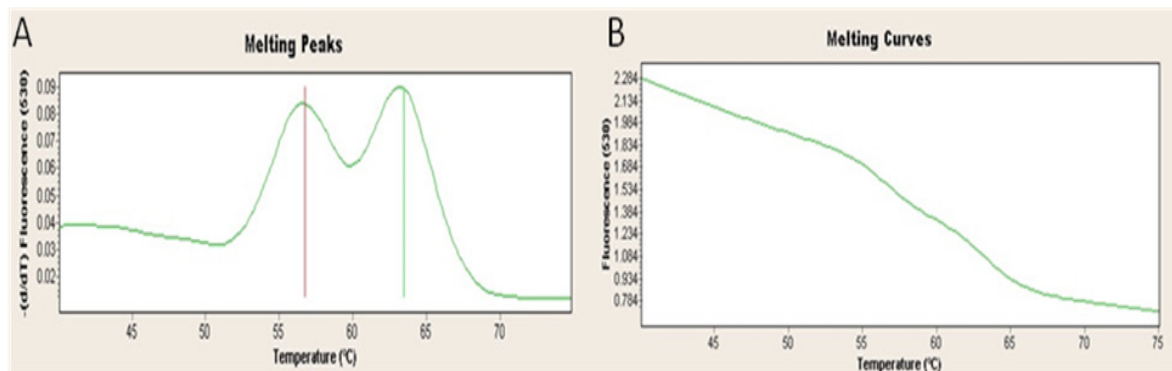


**Figure 1.** Positive (A) and negative (B) reaction for BMP-6 (rs267196) genotype

**Table 3.** Demographic and clinical characteristics of the participants

BMP-6 rs267196	AS Group (n=42) %	Control Group (n=58) %
AA	4 (9.5)	9 (15.5)
AT	16 (38.1)	26 (44.8)
TT	22 (22)	23 (39.7)
A	24 (28.6)	44 (45.8)
T	60 (71.4)	52 (54.2)
P		0.58
Odds Ratio		1.40
CI (95%)		0.43 to 4.51
BMP-6 rs267192	AS Group (n=42) %	Control Group (n=58)%
CC	22 (50)	33 (56.9)
CT	18 (40.9)	22 (37.9)
TT	2 (4.5)	3 (5.2)
C	64 (74.4)	88 (75.9)
T	22 (25.6)	28 (24.1)
P		0.81
Odds Ratio		1.08
CI (95%)		0.57 to 2.06

Med calc statistical software  $p < 0.0$



**Figure 2.** Positive (A) and negative (B) reaction for BMP-6 (rs267196) genotype

for 75.9% (n=88) and 24.1% (n=28), respectively (p=0.81, OR=1.08, 95% CI =0.57 to 2.06) (Table 3).

We analyzed the relationship between clinical findings (Sedimentation, CRP, BASDAI score) and BMP-6 rs267196 and BMP-6 rs267192 genotypes among AS patients (Table 4). The between-group differences in sedimentation and CRP level were not found significant statistically (p>0.05).

We further analyzed the association between the values of HLA-B27 positive vs. negative AS patients and BMP-6 polymorphisms (Table 5). In the HLA-B27 positive group, 2 participants (50%) were homozygous (AA genotype), 12 (75%) were heterozygous (AT genotype), whereas 19 (90.5%) were observed to have

no mutation (TT) genotype for the BMP-6 rs267196. In the HLA-B27 negative group, the distribution of the AA, AT, and TT genotypes were 2 (50%), 4 (25%), and 2 (9.5%), respectively (p=0.147), whereas the genotypic distributions of (BMP-6 rs267192) between the CC, CT, and TT in the HLA-B27 positive group were 19 (90.5%), 13 (72.2%) and 1 (50%) respectively (Table 5; p=0.147).

### DISCUSSION

AS is a chronic and progressive disease with still gray areas in the etiology (2). The knowledge about the pathogenesis of AS is limited. Studies intended

**Table 4.** Differences in sedimentation, CRP, and BASDAI among AS patients ranked by BMP-6 rs267196 and BMP-6 rs267192 genotypes

Variables	Sedimentation (mm/h)		CRP (mg/L)		BASDAI	
	Mean ± SD	Median (Min-Max)	Mean ± SD	Median (Min-Max)	Mean ± SD	Median (Min-Max)
<b>BMP-6 rs267196</b>						
AA	14.08±11.78	10.00 (5.00-50.00)	0.50±0.55	0.37 (0.10-2.14)	2.43±1.49	2.20 (1.00-4.30)
AT	21.29±18.35	15.00 (4.00-79.00)	0.59±0.61	0.42 (0.10-3.16)	2.91±1.64	2.80 (0.00-5.60)
TT	23.39±16.06	17.50 (2.00-62.00)	0.72±1.07	0.37 (0.10-7.05)	4.16±2.07	3.95 (0.90-8.10)
p value	0.514*		0.674*		0.072**	
<b>BMP-6 rs267192</b>						
CC	21.60±15.37	16.00 (2.00-62.00)	0.65±0.99	0.34 (0.10-7.05)	4.16±2.07	3.95 (0.90-8.10)
CT	21.20±18.64	15.00 (4.00-79.00)	0.65±0.65	0.42 (0.10-3.16)	2.72±1.64	2.40 (0.00-5.60)
TT	19.20±17.96	16.00 (5.00-50.00)	0.45±0.38	0.37 (0.10-1.10)	3.60±0.99	3.60 (2.90-4.30)
p value	0.581*		0.663*		0.065**	

BASDAI: Bath ankylosing spondylitis activity index, SD: Standard deviation, p\*: Kruskal Wallis Variance Analysis test, \*\*: ANOVA test

**Table 5.** Difference in HLA-B27 positivity according to the BMP-6 rs267196 and rs267192 genotypes

Variables	AS HLAB27		p value
	AS HLAB27 (+)	AS HLAB27(-)	
<b>BMP-6 rs267196</b>	n (%)	n (%)	
AA	2 (50.0)	2 (50.0)	0.147
AT	12 (75.0)	4 (25.0)	
TT	19 (90.5)	2 (9.5)	
<b>BMP-6 rs267192</b>			
CC	19 (90.5)	2 (9.5)	0.147
CT	13 (72.2)	5 (27.8)	
TT	1 (50.0)	1 (50.0)	

p: Kolmogorov Smirnov-Z test

to reveal its mechanism have focused on the identification of the pathogenic factors, the mediators of the inflammation and regulators of the disease process (15, 16). To understand the pathophysiology of this disease, prevention-oriented efforts and management of acute treatment strategies are very important in terms of development. Biochemical and genetic findings have been widely used in the clinical diagnosis of patients with AS. Therefore, a considerable number of recent studies have investigated the laboratory findings on AS in different societies (13, 17, 18). In recent years, there have been very rapid advances in genetic factors that shed light on the aetiopathogenesis of AS (19). In a study on the identification of multiple risk variants for AS by genotyping immune-related loci, 13 new risky loci and 12 additional AS-associated haplotypes at 11 loci were identified (1). The present research is the first study demonstrating the relationship between the susceptibility to AS and BMP-6 polymorphisms (rs267192 and rs267196). This study aimed to contribute to the efforts intended for early diagnosis of the disease and possible effective treatments by

detecting these SNPs and identifying these genetic markers.

There are still no commonly known serum biomarkers to monitor the disease's activity and functional status in patients with AS other than the related CRP and sedimentation level. The CRP and sedimentation levels in the AS group significantly increased in this study ( $p < 0.001$ ). Similarly, in a previous study, CRP, neutrophil count, and platelet values were found significantly higher in AS patients than in the control group (20).

Additionally, we analyzed the relationship between the participants' genetic profiles and hematological parameters. The differences between BMP-6 rs267196 and rs267192 which were observed in sedimentation and CRP levels were not found significant ( $p > 0.05$ ) (Table 4). In another study having determined similar results with the present study, Chaouch et al. (18) reported that genetic profile distribution by hematological parameters did not yield a significant difference between the groups with normal genotype and risk genotype. However, the BASDAI index was found to be statistically significant

in individuals with AA, AT, TT genotype in rs267196 and with CC, CT, TT genotype in rs267196 ( $p < 0.05$ ) (Table 4).

BMPs have an important role in bone development and formation (21). In the presence of BMPs, the precursor cells differentiate into chondrocytes first, then the cartilage structure is built and eventually the bone is formed. Furthermore, they were determined in hypertrophic chondrocytes (21). BMP-6 messenger RNA is localized in hypertrophic cartilage and BMP-6 plays a crucial part in the maintenance and repair of human articular cartilage. Therefore, polymorphisms of BMP-6 are very likely to involve in the regulation of the bone system and necessary for bone metabolism and induce ectopic bone development, pulmonary hypertension in sickle cell and breast cancer growth and progression (4). This study aimed to determine the relationship between BMP-6 gene polymorphism and disease activity in the patients with AS, who were male and female subjects with no additional comorbidities. Up to now, no study has been conducted to investigate BMP-6 (rs267192 and rs267196) polymorphisms and disease activity in Turkish patients with AS.

So far a large number of research articles have been published about BMPs. Ashley et al. (22) investigated the relationship between ACVRL1, BMP2, and BMP-6 gene polymorphisms and pulmonary hypertension of the TGF $\beta$  family. They found out that genes in the TGF $\beta$  pathway contributed to sick cell pathophysiology independently; besides, SNPs of ACVRL1, BMP-6, and ADRB1 genes were also revealed to contribute to pulmonary hypertension development according to the regression model with hemoglobin and age statically. In our study, no statistically significant relationship was obtained between BMP-6 (rs267192 and rs267196) polymorphisms in AS patients in comparison to the healthy group. The allele frequencies of BMP-6 rs267192 and rs267196 were similar among AS patients and controls. Contrarily, in a study on AS with BMP-6, a relationship was observed between an increased risk of development of syndesmophyte and initial

bone formation (4). Further, Joo et al. examined (4) SNPs of genes associated with bone formation, most of which were associated with WNT and BMPs, among them, risk alleles in rs270378 and rs1235192 in BMP-6 were found to increase the risk of syndesmophyte formation in AS patients. The study by Yan et al. (23) investigated whether BMP-2 is a gene that may cause susceptibility to ossification and found that TG and AT genotype polymorphism was related to the development of posterior longitudinal ligament in their study group.

The present study revealed little difference between the patients with AS and the controls in terms of genotype frequencies of the BMP-6 rs267196. No statistically significant difference was observed in the distribution of the rs267196 genotypes in the AS patients. The frequencies of the AA and AT, TT genotype of BMP-6 (rs267196) were higher in the AS patients than in the controls. The genotype frequencies of BMP-6 (rs267196) AA homozygotes were found higher in AS patients in comparison to TT homozygotes. Similarly, TT homozygotes were also realized to be higher in the patients when compared to AT heterozygotes. In addition, AA homozygotes in comparison with AA and AT genotypes were demonstrated to be higher in the controls than in the patients. Compared to the normal genotype, the risk of disease was discovered to increase 1.4 times for people with AA homozygous mutant genotype vs. TT homozygote. Since the OR value was greater than one, it was predicted that both loci could be associated with AS-induced risks; however, p value was not considered to be statistically significant ( $p > 0.05$ ) (Table 3).

Similar studies are available in the related literature, which evaluate the role of HLA-B27 in AS (24, 25). There is evidence that HLA-B27 mutation has many implications in the pathogenesis of spondylarthritis and AS (26). It is accepted that the incidences of the disease are correlated with the HLA-B27 frequency in the geographical area studied and that patients who carry the HLA-B27 gene in their

blood are more susceptible to this disease. However, some HLA-B27 negative patients too may develop the disease (27). Detection of the non-HLA-B27 genetic factors that are thought to be associated with AS will expose the pathogenesis of the disease (28). In this study, while HLA-B27 positivity was 90.1%, HLA-B27 negative cases accounted for 19.1%. Khan claimed that 8% of the Northwestern European population had HLA-B27 and more than 90% of AS patients have this gene (29). Similarly, Cauli found that HLA-B27 molecules in patients with AS had greater expression than in healthy subjects (30).

Recently some genetic investigations have been carried out to pinpoint the risk of SNP in patients with AS. In the study conducted by Wang over 1150 controls and 797 patients of a Taiwan, ERAP1 variants of rs27037 polymorphism were shown to be associated with the risk of AS disease (31). Similarly, Chaouch and Ulug found an association between rs267196 and a vascular necrosis and osteonecrosis in patients suffering from SCA (18, 32). However, as for rs267196 and rs267192 of BMP-6 gene, no significant associations were found in AS patients. In a study over 100 healthy and 100 patient subjects selected from a Central Anatolia, the relationship between HLA-B27, MEFV mutations and ERAP1 polymorphism was shown to play an important role in the pathogenesis of AS (33). The rs3213120, rs11209026, and rs30187 SNPs in the IL12B, IL23R, and ERAP1 genes were studied in AS patients and healthy control group and the possible association of AS disease with these gene regions was analyzed and the rs30187 polymorphism in the ERAP1 gene region and the frequency of heterozygote (CT) alleles were found to be statistically significant in the patients with AS in comparison to the control group ( $p = 0.033$ , OR: 2.1, 95% CI: 1.2-3.7) (33). In the present study, BMP-6 (rs267192 and rs267196) polymorphism heterozygote and homozygous allele frequencies were not observed to be statistically significant. Temel (34) investigated the association between AS patients with SS and IL-23R gene polymorphism. In terms of

the gene polymorphism of IL-23, the comparison of AS patients and control group yielded an increase in the frequency of rs10889677 mutant genotype (AA) and a decrease in the frequency of rs11209032 mutant type (AA) ( $p$  values were 0.023 and  $<0.001$ , respectively). It found that, rs11209032 genotype may be associated with the development of SS in patients with AS. Akbulut et al., (35) performed genotyping of rs27037 polymorphism in order to determine the genetic risk susceptibility of AS in Malatya, Turkey. They found no association between AS and rs27037 polymorphism. Although the OR value of the T allele was determined to be 1.06 (95% OR = 0.69-1.65), the rs27037 polymorphism could not be associated with the risk of disease due to the  $p$  value of 0.776. In the study by Chen et al. (36) they investigated the relationship between polymorphism in the ERAP1 gene. The ERAP1 gene polymorphism was found to have a great contribution to the formation of AS. On the other hand, it was demonstrated by Zhang et al. (37) in a study conducted over 602 patients and 619 controls from an Asian group in 2013 that rs27037 polymorphism was not associated with the risk of AS disease.

The current study also analyzed the relation between HLAB27 and rs267196 and rs267192 to understand the gene-gene interaction and revealed no significant relationship between gene-gene interaction between HLA-B27 and those SNPs ( $p=0.147$ ) (Table 5). Evans et al. (38) observed strong evidence for gene-gene interaction between HLA-B27 and rs4349859, rs30187 in ERAP1 ( $p= 7.3 \times 10^{-6}$ ).

In conclusion; it was seen that the BMP-6 gene is a possible risk factor for the progress of AS. This is the first study to investigate BMP-6 polymorphism in this region, where AS disease is very common. More representative results can be obtained by studying more patients and comparing results from different ethnic groups. Besides, more extensive studies are needed to demonstrate the biological role of BMP-6 in the development of ankylosis in humans with AS.



**ACKNOWLEDGMENT**

This study was supported by Çanakkale Onsekiz Mart University Scientific Research Projects with project number TSA-2014-303.

**REFERENCES**

1. Cortes A, Hadler J, Pointon JP, Robinson PC, Karaderi T, Leo P, et al. Identification of multiple risk variants for ankylosing spondylitis through high-density genotyping of immune-related loci. *Nature genetics*, 2013;45(7):730.
2. Coşan F, Gül A. Ankilozan spondilit patogenezi. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci*, 2007;3(25):13-9.
3. Brown MA, Kenna T, Wordsworth BP. Genetics of ankylosing spondylitis-insights into pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol*, 2016;12(2):81-91.
4. Joo YB, Bang SY, Kim TH, Shim SC, Lee S, Joo KB, et al. Bone morphogenetic protein 6 polymorphisms are associated with radiographic progression in ankylosing spondylitis. *PLoS One*, 2014;9(8):e104966.
5. Burton PR, Clayton DG, Cardon LR, Craddock N, Deloukas P, Duncanson A, et al. Association scan of 14,500 nonsynonymous SNPs in four diseases identifies autoimmunity variants. *Nat Gen*, 2007;39(11):1329.
6. Grgurevic L, Christensen GL, Schulz TJ, Vukicevic S. Bone morphogenetic proteins in inflammation, glucose homeostasis and adipose tissue energy metabolism. *Cytokine & Growth Factor Rev*, 2016;27:105-18.
7. Liao H, Lin Y, Tsai C, Chou T. Bone morphogenetic proteins and dickkopf-1 in ankylosing spondylitis. *Scand J Rheumatol*, 2018;47(1):56-61.
8. Baldwin C, Nolan VG, Wyszynski DF, Ma Q-L, Sebastiani P, Embury SH, et al. Association of klotho, bone morphogenetic protein 6, and annexin A2 polymorphisms with sickle cell osteonecrosis. *Blood*, 2005;106(1):372-5.
9. Mahmoud A, Fayez D, Gabal MMA, Hamza SMH, Badr T. Insight on bone morphogenetic protein 7 in ankylosing spondylitis and its association with disease activity and radiographic damage. *Electronic Physician*, 2016;8(7):2670.
10. Chen HA, Chen CH, Lin YJ, Chen PC, Chen WS, Lu CL, et al. Association of bone morphogenetic proteins with spinal fusion in ankylosing spondylitis. *J Rheumatol*, 2010;37(10):2126-32.
11. Jane Jr JA, Dunford BA, Kron A, Pittman DD, Sasaki T, Li JZ, et al. Ectopic osteogenesis using adenoviral bone morphogenetic protein (BMP)-4 and BMP-6 gene transfer. *Mol Ther*, 2002;6(4):464-70.
12. Wendling D, Cedoz JP, Racadot E, Dumoulin G. Serum IL-17, BMP-7, and bone turnover markers in patients with ankylosing spondylitis. *Joint Bone Spine*, 2007;74(3):304-5.
13. Akbulut E, Erdemir A, Özgen M, Baskin Y, Güleç F, Turgut Balık D. Genotyping and analysis of rs27037 polymorphism for ankylosing spondylitis. *Sigma J Eng Nat Sci*, 2015;6(1):117-25
14. van der Linden S, Brown M, Kenna T, Maksymowych W, Robinson P. Ankylosing spondylitis. In: Firestein G, Budd R, Gabriel SE, McInnes IB, O'Dell J, eds. *Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology*. 10th ed. Amsterdam: Elsevier, 2017.
15. Dakwar E, Reddy J, Vale FL, Uribe JS. A review of the pathogenesis of ankylosing spondylitis. *Neurosurg Focus*, 2008;24(1):E2. doi: 10.3171/FOC/2008/24/1/E2.
16. Kim TH, Uhm WS, Inman RD. Pathogenesis of ankylosing spondylitis and reactive arthritis. *Curr Opin Rheumatol*, 2005;17(4):400-5.
17. Na KS, Kim TH, Rahman P, Peddle L, Choi CB, Inman RD. Analysis of single nucleotide polymorphisms in toll-like receptor 4 shows no association with ankylosing spondylitis in a Korean population. *Rheumatol Int*, 2008;28(7):627-30.
18. Chaouch L, Kalai M, Jbara MB, Chaabene AB, Dar-ragi I, Chauouchi D, et al. Association between rs267196 and rs267201 of BMP6 gene and osteonecrosis among sickle cell anemia patients. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2015;159(1):145-9.

19. Brown MA, Kenna T, Wordsworth BP. Genetics of ankylosing spondylitis—insights into pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol*, 2016;12(2):81.
20. Aşkın A. Ankilozan spondilit hastalarında nötrofil/lenfosit oranı, trombosit/lenfosit oranı ve ortalama trombosit hacminin değerlendirilmesi. *Cukurova Med J*, 41(3):479-84.
21. Lories RJ, Luyten FP. Bone morphogenetic protein signaling in joint homeostasis and disease. *Cytokine & Growth Factor Rev*, 2005;16(3):287-98.
22. Ashley Koch AE, Elliott L, Kail ME, De Castro LM, Jonassaint J, Jackson TL, et al. Identification of genetic polymorphisms associated with risk for pulmonary hypertension in sickle cell disease. *Blood*, 2008;111(12):5721-6.
23. Yan L, Chang Z, Liu Y, Li Y, He B, Hao D. A single nucleotide polymorphism in the human bone morphogenetic protein-2 gene (109T> G) affects the smad signaling pathway and the predisposition to ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. *Chin Med J*, 2013;126(6):1112-8.
24. McHugh K, Bowness P. The link between HLA-B27 and SpA—new ideas on an old problem. *Rheumatol*, 2012;51(9):1529-39.
25. Akbal A, Reşorlu H, Gökmen F, Savaş Y, Zateri Ç, Sargin B, et al. The relationship between C-reactive protein rs3091244 polymorphism and ankylosing spondylitis. *Int J Dis*, 2016;19(1):43-8.
26. Tam LS, Gu J, Yu D. Pathogenesis of ankylosing spondylitis. *Nat Rev Rheumatol*, 2010;6(7):399.
27. Wolf J, Fasching P. Ankylosing spondylitis. *Wien Med Wochenschr*, 2010;160(9-10):211-4.
28. Çay HF, Kaçar C. Ankilozan spondilit epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri J Immunol- Rheumatol Special Topics*, 2011;4(1):1-6.
29. Khan MA. Remarkable polymorphism of HLA-B27: an ongoing saga. *Curr Rheumatol Rep*, 2010;12(5):337-41.
30. Cauli A, Dessole G, Fiorillo M, Vacca A, Mameli A, Bitti P, et al. Increased level of HLA-B27 expression in ankylosing spondylitis patients compared with healthy HLA-B27-positive subjects: a possible further susceptibility factor for the development of disease. *Rheumatol*, 2002;41(12):1375-9.
31. Wang CM, Ho HH, Chang SW, Wu YJ, Lin JC, Chang PY, et al. ERAP1 genetic variations associated with HLA-B27 interaction and disease severity of syndesmophytes formation in Taiwanese ankylosing spondylitis. *Arthritis Research Ther*, 2012;14(3):R125.
32. Ulug P, Vasavda N, Awogbade M, Cunningham J, Menzel S, Thein SL. Association of sickle avascular necrosis with bone morphogenetic protein 6. *Ann Hematol*, 2009;88(8):803-5.
33. Pekacar FS, Akdoğan A, Hayran M, Çolak R, Yılmaz E. Ankilozan spondilit ile HLA-B27, MEFV gen mutasyonları, ERAP1, IL12B ve IL23R gen polimorfizmleri arasındaki ilişki. *Türk Biyokimya Derg*, 2014;39(4):482-7.
34. Temel Ş. Primer sjögren sendromu, ankilozan spondilit ve ankilozan spondilitle birlikte sjögren sendromu tanılı hastalarda IL 23 reseptör gen polimorfizminin karşılaştırılması. *Tıpta Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üni Tıp Fak İç Hast ABD*, 2014.
35. Akbulut E, Erdemir A, Özgen M, Baskin Y. Genotyping and analysis of rs27037 polymorphism for ankylosing spondylitis. *Sigma J Eng & Nat Sci*, 2015; 6(1): 117-125.
36. Chen R, Yao L, Meng T, Xu W. The association between seven ERAP1 polymorphisms and ankylosing spondylitis susceptibility: a meta-analysis involving 8,530 cases and 12,449 controls. *Rheumatol Int*, 2012;32(4):909-14.
37. Zhang Z, Dai D, Yu K, Yuan F, Jin J, Ding L, et al. Association of HLA-B27 and ERAP1 with ankylosing spondylitis susceptibility in Beijing Han Chinese. *HLA*, 2014;83(5):324-9.
38. Evans DM, Spencer CC, Pointon JJ, Su Z, Harvey D, Kochan G, et al. Interaction between ERAP1 and HLA-B27 in ankylosing spondylitis implicates peptide handling in the mechanism for HLA-B27 in disease susceptibility. *Nat Gen*, 2011;43(8):761.

## Western blot assay of anti-*Echinococcus granulosus* antibody positive serum samples by indirect haemagglutination method

### İndirekt hemaglütinasyon yöntemiyle anti-*Echinococcus granulosus* antikorları pozitif saptanan serum örneklerinin western blot testi ile değerlendirilmesi

Ayşe Semra GÜRESER<sup>1</sup>, Gamze Gizem DUMAN<sup>2</sup>, Fakhriddin SARZHANOV<sup>3</sup>, Djursun KARASARTOVA<sup>1</sup>, Funda DOGRUMAN-AL<sup>3</sup>, Ayşegül TAYLAN-OZKAN<sup>1</sup>

#### ABSTRACT

**Objective:** Cystic echinococcosis (CE) is a zoonotic disease mainly caused by the larvae of *Echinococcus granulosus* which is common in rural areas in Turkey. A multidisciplinary approach consisting of clinicians, radiologists and microbiologists is required for the proper diagnosis of the disease. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and indirect hemagglutination (IHA) tests are preferred in the primer diagnosis of cystic echinococcosis (CE), while western blot (WB) is used to confirm the disease. However the use of serologic tests alone in diagnosis and follow-up of the disease is not recommended due to variable sensitivity and specificity rates and multiple serologic tests are required for appropriate diagnosis. In this study, it was aimed to compare the test results of patients sera sent to Gazi University Medical Faculty Microbiology Laboratory, between December 2015 and December 2016, with the preliminary diagnosis of CE, by WB test after those titrated with IHA. It is also aimed to determine the consistency between the two tests.

**Methods:** CE suspicious specimens were first tested

#### ÖZET

**Amaç:** *Echinococcus granulosus* larvasının insanlarda sebep olduğu kistik ekinokokkoz (KE), ülkemizde hayvancılığın yoğun olarak yapıldığı bölgelerde yaygın görülen ve tanı için klinisyen, radyolog ve mikrobiyologların multidisipliner yaklaşımını gerektiren bir zoonozdur. Enzim-linked immünassay (ELISA) ve indirekt hemaglütinasyon (IHA), hastaların tanısında ilk sırada tercih edilirken Western Blot (WB) testi daha çok doğrulama amacıyla kullanılmaktadır. Fakat serolojik testlerin hastalığın tanı ve takibinde tek başına kullanımı, değişken duyarlılık ve özgüllük oranları nedeniyle önerilmemekte, uygun tanı için birden fazla serolojik testin kullanımı gerekmektedir. Bu çalışmada, Aralık 2015-2016 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na KE şüphesiyle gönderilen hasta serumlarında IHA yöntemiyle titrasyon veren örneklerin doğrulama testi olarak kabul edilen WB yöntemi ile değerlendirilmesi ve iki test arasındaki tutarlılığın saptanması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** KE şüpheli örnekler, *E. granulosus* antijenleri ile hazırlanmış IHA (Fumouze Laboratoires,

<sup>1</sup>Hittit University, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Çorum

<sup>2</sup>Sütçü İmam University, Faculty of Medicine, Department of Ophthalmic Surgery, Kahramanmaraş

<sup>3</sup>Gazi University, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Ayşe Semra GÜRESER

Ucdutlar Mah., Ahcılar I. Sok. 19200 Çorum - Türkiye

Tel : +90 505 235 47 88 E-posta / E-mail : semrakalay@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 21.02.2019

Kabul Tarihi / Accepted : 27.03.2019

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2019.03779

Güreser AS, Duman GG, Sarzhanov F, Karasartova D, Dogruman-Al F, Taylan-Ozkan A. Western blot assay of anti-*Echinococcus granulosus* antibody positive serum samples by indirect haemagglutination method. Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(2): 195-202

by the IHA method (Fumouze Laboratoires, France) prepared with *E. granulosus* antigens. Afterwards 54 samples were tested again with the WB method (Anti-Echinococcus EUROLINE-WB1gG, Germany). The presence and intensity of antigen bands on the WB strips was assessed using commercial EUROLINE Scansoftware.

**Results:** Of the 54 cases, we found that 44 (81.48%) were positive with IHA test while 46 (85.19%) of them were positive with WB method. Six patients (11.12%) were positive with WB while they were negative by the IHA (< 1/320 titer). Two of them were IHA-negative in the titer 1/80, four in the titer 1/160. Cohen's Kappa analysis showed fair (slight) consistency ( $\kappa = 0.26$ ) between the two tests.

**Conclusion:** As a result, using only IHA test can miss out CE patients therefore, the combined use of immunoassay tests increases the sensitivity in diagnosis. In the case of screening with IHA and confirmation with WB, for the more accurate results, analysis of all sera titrating with IHA from 1/80 is recommended with WB, even if it is negative according to kit procedures.

**Key Words:** Cystic echinococcosis, serology, diagnosis, indirect haemagglutination test, western blot

Fransa) yöntemi ile analiz edilmiş, titre veren 54 örnek doğrulama testi kabul edilen WB (Anti-Echinococcus EUROLINE-WB1gG, Almanya) yöntemi ile tekrar çalışılmıştır. WB stripleri üzerindeki antijen bantlarının varlığı ve yoğunluğu ticari EURO-LineScan yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** 54 hastanın 44 (%81,48)'ü IHA ile pozitif saptanırken, WB yöntemi ile 46(%85,19)'sı pozitif olarak saptanmıştır. Altı (%11,12) hasta IHA ile negatif (< 1/320 titre) olarak saptanırken WB testi ile pozitif olarak saptanmıştır. Bunlardan iki tanesi 1/80, dört tanesi de 1/160 titrede IHA negatif olarak saptanmıştır. Cohen's Kappa analizi ile iki test arasında düşük (fair, slight) tutarlılık olduğu saptanmıştır.

**Sonuç:** Sonuç olarak KE tanısında sadece IHA testi ile pozitif olan hastalar atlanabilmekte; bu nedenle immünoanalitik testlerin birlikte kullanımı tanıya duyarlılığı arttırmaktadır. IHA ile tarama, WB ile doğrulama yapılması durumunda kit kullanım kılavuzuna göre negatif olarak değerlendirilse dahi daha doğru sonuç verme açısından 1/80'den itibaren titrasyon veren tüm serumların WB ile analizi önerilir.

**Anahtar Kelimeler:** Kistik ekinokokoz, seroloji, tanı, indirekt hemagglütinasyon testi, western blot

## INTRODUCTION

Cystic echinococcosis, (CE) caused by larval form of the *Echinococcus granulosus* is endemic in many regions of the world, such as western and central Asia, south and south-eastern Europe and Middle East as well as in Turkey (1-11). The disease is a zoonosis and occurs after eggs of the parasite are being ingested by humans. The oncospheres hatch and penetrate the intestinal mucosa, enter the blood or lymphatic vessels and spread in the internal organs

to form the fluid-filled cyst structure (12). Patients with CE are usually asymptomatic and it is possible to discover cysts by imaging methods incidentally (13). In general, only large cysts can cause clinical symptoms in humans, symptoms of the disease are nonspecific and vary according to the location of cysts. Clinical findings may be confused with the findings of the benign cysts, cavitary tuberculosis, mycoses, benign and malignant tumors (7).

Radiological imaging methods, including ultrasonography, computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI), are important for the diagnosis of CE but serological tests have only a complementary role in the diagnosis because of the low sensitivity and low specificity due to cross-reactions with a plenty of diseases (14-18). Sensitivity of serological tests was reported as 88-96% in liver cysts, 50-56% in lung cysts and 25-26% in other organ cysts (15). However, serology may provide valuable information when imaging studies are insufficient.

The most commonly used serological tests are indirect haemagglutination (IHA), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), indirect fluorescent antibody (IFA) and immunoblotting tests that detect specific IgG antibodies (7, 16, 19-23). The western blot (WB) test, one of the immunoblotting methods, is used for confirmation, while ELISA and IHA are the first-line tests for CE diagnosis (14, 19, 20, 22). Although the IHA test was considered to have variable (60-100%) sensitivity and poor specificity, it is one of the most frequently used test to screen CE (24, 25). Positive test results should be confirmed by immunoblotting although this technique is not widely available (26).

As a result, there is no standard serological test with high sensitivity and specificity that can be used in CE diagnosis today. This is due to the fact that the sensitivity and specificity of serological tests are influenced by a number of factors, such as the quality of the used antigen, location, number and size of the cysts and the individual differences in immunological response of the patients (27). For this reason, many laboratories use, at least two different serological tests, together to increase sensitivity in the diagnosis of CE (12).

In this study, we used IHA test as a screening test and WB assay as a confirming test in patients, who were prediagnosed CE. The aim was to determine whether there is consistency between the two tests.

## MATERIAL and METHOD

The present study included serum samples from 54 patients of both genders and different ages, with CE that presented between December 2015 and 2016 at the Gazi University Faculty of Medicine in Ankara, Turkey. The diagnosis of CE is confirmed by clinical findings, characteristic abnormalities in diagnostic imaging and demonstration of specific antibodies against *Echinococcus* spp. The presence of specific antibodies against *Echinococcus* species was demonstrated by two of the following tests: indirect haemagglutination (IHA, Fumouze, France) and WB (Anti-Echinococcus EUROLINE-WB IgG, Germany).

Samples were first studied with IHA (Fumouze Laboratories, France) prepared with *E. granulosus* antigens to detect antibodies. Serum was diluted to 1/80, 1/160, and 1/320 for IHA and the test was repeated at the upper titers (1/640, 1/1280, 1/2560) when positive results were detected. In the test using antigenic red cell suspension, after 2 hours of incubation, a button-like precipitate was considered negative, while a serrated and lenticular appearance was considered positive. According to the manufacturer's recommendations  $\geq 1/320$  antibody titration were evaluated as positive for CE.

All IHA positive sera with low, mid-range, and high titers were secondly retested with WB method (Anti-*Echinococcus* EUROLINE-WB IgG, Germany), which accepted as confirmation test. The commercially developed WB assay contains electrophoretically separated *E. multilocularis* metacestode vesicle fluid antigens; p25/26 (25-26kDa), p16/18(16-18kDa), p21 and p7 antigens and three membrane chips with recombinant *E. granulosus* antigen AgB8 plus *E. multilocularis* antigens Em18 and Em95. The presence and intensity of antigen bands on the WB strips were assessed using the commercial EUROLINE Scan software. The manufacturer reported that the sensitivity of the WB test was 93% and the specificity was 100%.

Consistency analysis of the test results was statistically evaluated by Cohen's Kappa analysis (28).

## RESULTS

Of the 54 serum samples, 44 (81.48%) were positive and ten (18.52%) were negative with IHA test. Forty-six (85.19%) of the samples were positive, seven (12.96%) were borderline and one (1.85%) was negative for *E. granulosus* antibody with WB method.

Six serum samples (11.12%) were detected as positive with WB while they were detected as negative by the IHA test ( $< 1/320$  antibody titer). Two of them were IHA-negative in the titer 1/80, four in the titer 1/160.

Three samples were detected as borderline with WB while they were negative with IHA. One (1.85%) of them was IHA-negative in the titer 1/80, two (3.71%) of them were IHA-negative in the titer 1/160.

One serum sample IHA-negative in the titer 1/160 was found as negative with WB method.

Four samples (7.4%) were found that were borderline with WB but positive with IHA test ( $\geq 1/320$ ). Two (3.771%) of them were IHA-positive in the titer 1/320, one (1.85%) in the titer 1/1280, and the other one (1.85%) in the titer 1/2560. When the blot test results of these patients were reviewed again, it was seen that all of the IgG and EgAgB bands were positive.

Coherence analysis was performed with Cohen's Kappa analysis, with a Kappa value of 0.22 and a weighted Kappa value of 0.26. In this analysis, it is accepted that values above 0.2 indicate consistency, and in our study it was determined that there was fair (slightly) consistency in the Cohen's Kappa analysis between IHA and WB tests.

A comparison of the results of the IHA and WB methods of serum samples is shown in Table1.

Table 1. WB and IHA test results of serum samples

		Western Blot Test			Total (%) n(%)
		Negative n(%)	Positive n(%)	Borderline n(%)	
Negative	1/80		2 (3.71)	1 (1.85)	3 (5.56)
	1/160	1 (1.85)	4 (7.41)	2 (3.71)	7 (12.96)
	1/320	-	8 (14.82)	2 (3.71)	10 (18.52)
IHA Test Positive	1/640	-	10 (18.52)	-	10 (18.52)
	1/1280	-	15 (27.77)	1 (1.85)	16 (29.62)
	1/2560	-	7 (12.96)	1 (1.85)	8 (14.82)
Total		1 (1.85)	46 (85.19)	7 (12.96)	54 (100.00)

## DISCUSSION

The use of serological tests in the diagnosis of CE and follow-up of patients has not been achieved at the desired level and it remains to be discussed which test should be selected for diagnosis and follow-up. There are a number of diagnostic tests based on ELISA, IHA, and immune-chromatography available for CE diagnosis, including either unprocessed natural antigens of the hydatid fluid or semi-purified fractions of the this antigenic mixture (14). In particular, test methods involving *E. granulosus* natural antigens are not sensitive and their specificity is not at the desired levels due to cross-reactions with cysticercosis, fasciolosis, filariasis and other helminth infections (12). It has been reported in the literature that serology could be detected as positive in 80-94% of the cases of CE while only 65% of the cases in the alveolar echinococcosis (7). The rate of false-positivity in current tests are high, because of the cross reactivity with other parasites, especially in infected patients with cestodes, and even in healthy individuals (29). In addition, serological tests are ineffective to determine inactive (treated or calcific cyst) or active (active and progressive cyst) disease (30). Therefore, a positive serology result should be confirmed by more specific secondary tests in cases where cyst cannot be clearly detected by radiological imaging methods. Secondary assays are immunoblot tests generated with *E. granulosus* antigens, the detection of specific IgG subtypes and arc five precipitation tests, which are generally less sensitive but more specific than the primary test systems (12, 22).

Today, the gold standard in the serological diagnosis of the disease is the detection of IgG antibodies by either ELISA or immunoblotting, using natural or recombinant antigen B subunits originating from cyst fluid (31). However, the difficulty of the standardization of the preparation techniques of the antigens and the limitations of the use of the appropriate source of antigen material significantly influence the performance of these assays (32). It

was reported that the combined use of immune-based tests in CE diagnosis will increase the diagnostic sensitivity (7, 19, 20).

In our study, we used IHA test as a screening test and WB assay as a confirming test in patients, who were prediagnosed CE. The aim was to determine whether there is consistency between the two tests. The IHA test was preferred because it is an easy, reliable, and short-term result, especially in serological diagnosis. IHA (Fumouze Laboratories, France) was tested by various investigators and reported with a sensitivity ranging from 34.9-88% and specificity ranging from 44-70% (20, 33, 34).

Of the 54 cases, we found that 44 (81.48%) were positive with IHA test while 46 (85.19%) of them were positive with WB method. Although the WB test used for CE diagnosis had a higher sensitivity than the ELISA and IHA tests (20, 22, 35), there were also studies reporting different results in the literature (36, 37). In a study in which 1323 patients with suspected CE disease were screened, only 48 (37.7%) were found to be positive by the WB method from 127 sera, which were found to be positive by the IHA method, while the others were found to be negative (36). We found that 40 (90%) of 44 IHA positive patients were positive and 4 patients were negative with WB, for CE. Of the four patients (7.4%), two (3.771%) of them were IHA-positive in the titer 1/320, one (1.85%) in the titer 1/1280, and the other one (1.85%) in the titer 1/2560. When the blot test results of these patients were reviewed again, it was seen that all of the IgG and EgAgB bands were positive. But according the kit procedure they considered as "borderline" due to the presence of only one of the p7, p21 or p25/26 patterns. It is thought that, the incompatibility of the WB and IHA tests in these patients may be related to the immunity of the patients, the location of the cyst, the size of the cyst, the number of cysts and even the genotype of the parasite (7, 12, 14, 19, 24, 25, 27, 38). Therefore, the detection of EgAgB and specific IgG bands in the blot results may be

indicative of disease diagnosis, even if the WB test is detected at the borderline. It was indicated that AgB is a polymeric lipoprotein with a molecular weight of 120 kDa and had an important role in relation to parasite biology and parasite host (39). We found six patients (11.12%) were positive with WB while they were negative by the IHA test (<1/320 antibody titer). Two of them were IHA-negative in the titer 1/80, four in the titer 1/160. False negativity in IHA tests may be related to patient-related factors such as the number of cysts, localization, size, age, immunity of the patient, and treatment (40). Akçam et. al. (41), reported that 23.1% of 134 patients, with extra-hepatic cysts reported as negative with IHA; ten of them were found to be as positive with WB (41). In another study, nine patients with a negative IHA test were diagnosed as CE by clinical and imaging methods (42). Therefore, the use of a single test in the serological diagnosis of CE may be insufficient for diagnosis, so it is recommended to evaluate it after studying more than one serological method (20, 22, 35, 37).

In our study, a fair consistency between the IHA and WB tests was statistically determined by Cohen's Kappa analysis. For this reason, although IHA was negative according to the kit instruction manual, it was suggested that all of the samples which have IHA-negative in the titer in  $\geq 1/80$  should be re-evaluated with the WB test.

As a result, the IHA and WB tests show little consistency. It should not be forgotten that CE diagnosis cannot be excluded as a result of a single negative serological test because of the possibility that some patients' diagnoses may not be detected by the IHA test alone. In clinical laboratories, if the WB test is used only for confirmation, it is recommended to evaluate all sera that have a positive titration with the IHA test, even if it is below the limit value. There is a continuing need for the development of test systems that are sensitive and specific, low cost, and easy to implement, which can be used today in the diagnosis of CE.

## REFERENCES

1. Saeed I, Kapel C, Saida LA, Willingham L, Nansen P. Epidemiology of *Echinococcus granulosus* in Arbil province, northern Iraq, 1990-1998. *J Helminthol*, 2000; 74 (1): 83-88.
2. Yazar S, Ozkan AT, Hökelek M, Polat E, Yılmaz H et al. Cystic echinococcosis in Turkey from 2001-2005. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 2008; 32 (3): 208-220.
3. Açıköz D, Inceboz T, Ozkara E, Korkmaz M, Birgen N, Uzün I. The investigation of frequency of cystic echinococcosis in the autopsies committed in the Speciality Department of Istanbul Forensic Medicine Institute. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 2009;33(2):155-157.
4. Feng X, Qi X, Yang L, Duan X, Fang B et al. Human cystic and alveolar echinococcosis in the Tibet Autonomous Region (TAR), China. *J Helminthol*, 2015; 89 (6): 671-679. doi: 10.1017/S0022149X15000656.
5. Ito A, Budke CM. The present situation of echinococcoses in Mongolia. *J Helminthol*, 2015; 89 (6): 680-688. doi: 10.1017/S0022149X15000620.
6. Raimkylov KM, Kuttubaev OT, Toigombaeva VS. Epidemiological analysis of the distribution of cystic and alveolar echinococcosis in Osh Oblast in the Kyrgyz Republic, 2000-2013. *J Helminthol*, 2015; 89 (6): 651-654. doi: 10.1017/S0022149X15000565.



7. Agudelo-Higuita NI, Brunetti E, McCloskey C. Cystic echinococcosis. *J Clin Microbiol*, 2016; 54: 518-523. doi: 10.1128/JCM.02420-15.
8. Deplazes P, Rinaldi L, Alvarez-Rojas CA, Torgerson PR, Harandi MF et al. Global distribution of alveolar and cystic echinococcosis. *Adv Parasitol*, 2017; 95: 315-493. doi: 10.1016/bs.apar.2016.11.001.
9. Yaman İ, İnceboz Ü, İnceboz T, Keyik B, Uzgören E. Primary pelvic cystic echinococcosis, *Türkiye Parazitoloj Derg.* 2015;39(2):167-70. doi:10.5152/tpd.2015.3623.
10. Arda B, Pullukçu H, Yamazhan T, Sipahi OR, Tamsel S et al. Prevalence of *Echinococcus granulosus* detected using enzyme immunoassay and abdominal ultrasonography in a group of students staying in a state dormitory in Turkey. *Turk J Med Sci*, 2009; 39 (5): 791-794. doi:10.3906/sag-0805-76.
11. Canda MŞ, Güray M, Canda T, Astarcioglu H. The pathology of echinococcosis and the current echinococcosis problem in western Turkey (A report of pathologic features in 80 cases). *Turk J Med Sci*, 2003; 33 (6) 369-74.
12. Eckert J, Gemmell MA, Meslin FX, Pawłowski, ZS. WHO Manual on echinococcosis in humans and animals: A public health problem of global concern 2002: 265 pp.
13. Del Carpio M, Mercapide CH, Salvitti JC, Uchiumi L, Sustercic J et al. Early diagnosis, treatment and follow-up of cystic echinococcosis in remote rural areas in Patagonia: impact of ultrasound training of non-specialists. *PLoS Negl Trop Dis*, 2012; 6: e1444. doi: 10.1371/journal.pntd.0001444.
14. Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review. *Int J Infect Dis*, 2009; 13: 125-133. doi: 10.1016/j.ijid.2008.03.037.
15. Biava MF, Dao A, Fortier B. Laboratory diagnosis of cystic hydatid disease. *World J Surg*, 2001; 25: 10-14.
16. Güreser AS, Özcan O, Öznel L, Boyacıoğlu Zİ, Taylan-Ozkan, A. Evaluation of the radiological, biochemical and serological parameters of patients pre-diagnosed as cystic echinococcosis in Çorum, Turkey. *Mikrobiyol Bul*, 2015; 49(2): 231-239.
17. Cherradi Y, Afifi R, Khannoussi W, Firwana M, Rahaoui A, Benazzouz M et al. Long-term results of percutaneous management of liver hydatid cysts: Experience of university hospital in endemic region. *J Med Sur Res*, 2016; 3 (2): 275-81.
18. Siles-Lucas M, Casulli A, Conraths FJ, Müller N. Laboratory diagnosis of *Echinococcus* spp. in human patients and infected animals. *Adv Parasitol*, 2017; 96: 159-257. doi: 10.1016/bs.apar.2016.09.003.
19. Yılmaz GR, Babür C. Diagnosis of echinococcosis. *Turk Hij Den Biyol Derg*, 2007; 64: 35-44.
20. Kılıç S, Babur C, Taylan-Ozkan A. Comparison of the results of indirect hemagglutination and ELISA methods for the cases prediagnosed as hydatid cyst disease. *Mikrobiyol Bul*, 2007; 41: 571-577.
21. Jin Y, Anvarov K, Khajibaev A, Hong S, Hong ST. Serodiagnosis of echinococcosis by ELISA using cystic fluid from Uzbekistan sheep. *Korean J Parasitol*, 2013; 51(3): 313-317. doi: 10.3347/kjp.2013.51.3.313.
22. Beyhan YE, Babür C, Mungan M, Özkan-Taylan A. Evaluation of cystic echinococcosis suspected patients applied to National Parasitology Reference Laboratory of Public Health Institution of Turkey between 2009-2013. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 2015; 39(1): 17-21. doi: 10.5152/tpd.2015.3646.
23. Chirag S, Fomda BA, Khan A, Malik AA, Lone GN et al. Detection of hydatid-specific antibodies in the serum and urine for the diagnosis of cystic echinococcosis in patients from the Kashmir Valley, India. *J Helminthol*, 2015; 89 (2): 232-237. doi: 10.1017/S0022149X13000837.
24. Doiz O, Benito R, Younes S, Osuna A, Clavel A, Gomez-Lusa R. Western blot applied to the diagnosis and post-treatment monitoring of human hydatidosis. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2001; 41: 139-42.
25. Aslan M, Yüksel P, Polat E, Cakan H, Ergin S et al. The diagnostic value of Western blot method in patients with cystic echinococcosis. *New Microbiol*, 2011; 34: 173-177.

26. Reiter-Owona I, Grüner B, Frosch M, Hoerauf A, Kern P, Tappe D. Serological confirmatory testing of alveolar and cystic echinococcosis in clinical practice: results of a comparative study with commercialized and in-house assays. *Clin Lab*, 2009; 55 (1-2): 41-8.
27. Manzano R, Sánchez-Ovejero C, Hernández-González A, Casulli A, Siles-Lucas, M. Serological diagnosis and follow-up of human cystic echinococcosis: a new hope for the future? *Biomed Res Int*, 2015;1-9. doi: 10.1155/2015/428205.
28. Gwet KL. *Handbook of Inter-Rate Reliability*. 4th ed. Gaithersburg, USA. 2014.
29. Kern P, Menezes da Silva A, Akhan O, Müllhaupt B, Vizcaychipi KA et al. The Echinococcoses: Diagnosis, clinical management and burden of disease. *Adv Parasitol*, 2017; 96: 259-369. doi: 10.1016/bs.apar.2016.09.006.
30. Zhang W, Li J, Mc Manus DP. M. Concepts in immunology and diagnosis of hydatid disease. *Clin Microbiol Rev*, 2003 16(1):18-36.
31. Craig PS, Mc Manus DP, Lightowers MW, Chabalgoity JA, Garcia HH et al. Prevention and control of cystic echinococcosis. *Lancet Infect Dis*, 2007; 7(6): 385-394. doi: 10.1016/S1473-3099(07)70134-2.
32. Carmena D, Benito A, Eraso E. Antigens for the immunodiagnosis of *Echinococcus granulosus* infection: An update. *Acta Trop*, 2006; 98; 74-86. doi: 10.1016/j.actatropica.2006.02.002.
33. Auer H, Stöckl C, Suhendra S, Schneider R. Sensitivity and specificity of new commercial tests for the detection of specific *Echinococcus* antibodies. *Wien Klin Wochenschr*, 2009; 121: 37-41. doi: 10.1007/s00508-009-1233-4.
34. Hernández-González A, Santivañez S, García HH, Rodríguez S, Muñoz S et al. Improved serodiagnosis of cystic echinococcosis using the new recombinant 2B2t antigen. *PLoS Negl Trop Dis*, 2012; 6(7): e1714. doi: 10.1371/journal.pntd.0001714.
35. Logar J, Soba B, Kotar T. Serological evidence for human cysticechinococcosis in Slovenia. *BMC Infect Dis*, 2008; 8: 4-7. doi: 10.1186/1471-2334-8-63.
36. Cetinkaya U, Hamamcı B, Kaya M, Gücüyetmez S, Kuk S et al. Investigation of anti-*Echinococcus granulosus* antibodies in patients with suspected cystic echinococcosis. *Turkiye Parazitoloj Derg*, 2012; 36(2): 57-60.
37. Kanwar JR, Kanwar RK, Grewal AS, Vinayak, VK. Significance of detection of immune-complexed 8 kDa hydatid-specific antigen for immunodiagnosis of hydatidosis. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 1994; 9: 231-236.
38. Sarkari B, Rezaei Z. Immunodiagnosis of human hydatid disease: Where do we stand? *World J Methodol*, 2015; 5: 185-195. doi: 10.5662/wjm.v5.i4.185.
39. Akcam AT, Ulku A, Koltas IS, Izol V, Bicer OS et al. Clinical characterisation of unusual cystic echinococcosis in Southern part of Turkey. *Ann Saudi Med*, 2014; 34: 508-516. doi: 10.5144/0256-4947.2014.508.
40. Wuestenberg J, Gruener B, Oeztuerk S, Mason RA, Haenle MM et al. Diagnostics in cystic echinococcosis: serology versus ultrasonography. *Turk J Gastroenterol*, 2014; 25(4): 398-404. doi: 10.5152/tjg.2014.7112

# Effects of progesterone treatment in polycystic ovary syndrome on pulmonary functions

## Polikistik over sendromunda progesteron tedavisinin pulmoner fonksiyonlara etkisi

Fikriye Karanfil YAMAN<sup>1</sup>, Sertaç ARSLAN<sup>2</sup>

### ABSTRACT

**Objective:** We aimed to evaluate patients with polycystic ovary syndrome in terms of respiratory function tests and to investigate the relationship between progesterone therapy and pulmonary functions.

**Methods:** Fifty patients, who were diagnosed polycystic ovary syndrome (PCOS) according to Rotterdam criteria, at gynecology and obstetrics clinic of a research and training hospital included in the study group. Fifty healthy person were included in the control group. Both groups were evaluated with pulmonary function tests (PFT) at pulmonary medicine clinic of a university hospital. Independent from PFT survey, the patient group was treated with two cycles of medroxyprogesterone acetate between 16 and 25 days of the cycle as the standart follow up and treatment at gynecology and obstetrics clinic. Afterwards they were evaluated with PFT again. Statistical analysis of independent measurements were analyzed by Student's t-test. Mann-Whitney U, Wilcoxon test was used to analyze the data without normal distribution. P value <0.05 was considered as significant.

**Results:** Post-treatment pulmonary function test values were compared with pre-treatment values. Post-treatment forced expiratory volume during the first

### ÖZET

**Amaç:** Çalışmamızda, polikistik over sendromlu hastaların solunum fonksiyon testlerinin ve progesteron tedavisinin solunum fonksiyonlarına etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Eğitim ve araştırma hastanesi kadın hastalıkları ve doğum kliniğinde Rotterdam Kriterleri'ne göre polikistik over sendromu (PKOS) tanısı almış hastalar ve PKOS olmadığı bilinen sağlıklı kadınlar üniversite hastanesi göğüs hastalıkları kliniğinde solunum fonksiyon testi (SFT) ile değerlendirildi. SFT'den bağımsız olarak, PKOS hastaları, kadın doğum kliniğinde iki siklus boyunca, siklusun 16. ve 25. günleri arasında medroksiprogesteron asetat ile tedavi edildi. Tedavi sonrasında hastalar tekrar SFT ile değerlendirildi. Bağımsız değişkenlerin karşılaştırılmasında Student's t-test, normal dağılım göstermeyen değişkenlerde Mann-Whitney U test ve Wilcoxon test kullanıldı. P<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

**Bulgular:** Tedavi sonrası FEV1 ve FVC değerleri tedavi öncesine göre anlamlı olarak artmış bulundu.

**Sonuç:** PKOS hastalarının tedavi öncesi SFT

<sup>1</sup>Konya Health Sciences University, Training and Research Hospital, Department of Obstetrics and Gynecology, Konya  
<sup>2</sup>Hittit University, Faculty of Medicine, Department of Pulmonary Medicine, Çorum



İletişim / Corresponding Author : Sertaç ARSLAN

Hittit Üni. Tıp Fakültesi, Eğitim ve Araştırma Hast. Göğüs Hastalıkları Polikliniği Çorum - Türkiye  
Tel : +90 532 366 6955 E-posta / E-mail : drsarlan@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 15.03.2019  
Kabul Tarihi / Accepted : 22.03.2019

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2019.46656

Yaman FK, Arslan S. Effects of progesterone treatment in polycystic ovary syndrome on pulmonary functions.  
Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(2): 203-210

second (FEV1) and forced vital capacity (FVC) values were found increased after the treatment.

**Conclusion:** Although the pulmonary function of PCOS patients were not different from that of the healthy female population, progesterone treatment has been shown to increase FEV1 and FVC parameters.

**Key Words:** Polycystic ovary syndrome, medroxyprogesterone acetate, pulmonary function test

değerleri ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık saptanmazken, tedavi sonrası FEV1 ve FVC değerleri artmış bulundu.

**Anahtar Kelimeler:** Polikistik over sendromu, medroksiprogesteron asetat, solunum fonksiyon testi

## INTRODUCTION

The polycystic ovary syndrome (PCOS) is an important cause of both menstrual irregularities and androgen excess, affecting between 5% and 15% of women of reproductive age (1). PCOS is characterized by impairment of ovulation, reduced fertility, miscarriage, and imbalance of reproductive hormones (2). Previous studies have demonstrated that women affected by PCOS show higher rates of respiratory disorders in comparison to the general population (3, 4). It is possible that hormonal changes in women affected by PCOS such as hyperandrogenism, hyperestrogenism and variable levels of gonadotropins in the blood may cause pulmonary function problems (2). PCOS and asthma share many common features regarding metabolic control, systemic inflammation, allergy, menstrual cycle and female sex hormones. Both conditions are aggravated by obesity and improved by weight loss (5). According to a study, 10.6% of patients with PCOS, were admitted to hospital because of asthma compared to only 4.5% among the control group without PCOS. Furthermore, a higher prevalence of respiratory diseases in general was seen among the patients with PCOS (6). Furthermore, there are growing evidences proving that progesterone is potent respiratory stimulant. Physiological effects of progesterone can affect various systems,

including immune and cardiorespiratory systems. Progesterone is known to cause a decrease in upper airway resistance. However there is no clear understanding of how progesterone mediates its stimulant respiratory effects. Mechanistically, it was demonstrated that this hormone elicits some of its respiratory effect via the classical mechanism of the nuclear progesterone receptor. Moreover, experimental results indicate that the membrane progesterone receptors could have a key role in the regulation of the respiratory control system (7). Menstrual irregularity and/or oligomenorrhea, which is a hallmark of PCOS, has a detrimental effect on lung function. Women with menstrual irregularity and/or oligomenorrhea are known to have a significantly lower forced vital capacity (FVC) than women with regular menstruations. The lung function is also affected by body mass index (BMI). At BMI 25 (kg/m<sup>2</sup>) FVC and FEV1 (forced expiratory volume during the first second) were at their maximum. Higher or lower BMI is associated with a lower FVC and FEV1 among women with irregular menstruations (8). We also aimed to evaluate patients with polycystic ovary syndrome in terms of respiratory health and to investigate the relationship between progesterone therapy and pulmonary functions, which is one of the treatment options of polycystic ovary syndrome.

## MATERIAL and METHOD

One hundred premenopausal women were included into the study, whose diagnosis and treatment were done in the research and training hospital gynecology clinic. Study was approved by the university hospital Ethics Committee. Participants were informed about the study design and they signed the consent form to participate to the study. Fifty patients between the ages of 15 and 45, who had polycystic ovary syndrome diagnosis according to Rotterdam criteria, having no systemic disease, no history of smoking, no asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) were included in the study group. Non-classic adrenal 21-hydroxylase deficiency, hyperprolactinemia and androgen secreting tumors were excluded by appropriate tests before the diagnosis of PCOS was made. Diagnosis is based on the Rotterdam criteria, comprising two of the following three conditions: (a) hyperandrogenism, (b) oligo- and/or anovulation, and (c) polycystic ovaries on ultrasound (9). Fifty patients who had regular menstrual cycles, no ultrasonographically diagnosed polycystic ovary syndrome, no signs of hyperandrogenism, 15-45 years of age, no systemic disease, no smoking, no asthma and no COPD were included in the control group. Patients were assessed by pulmonary function tests (PFT) when they were diagnosed with polycystic ovary syndrome and the control group was assessed by PFT when they applied for outpatient examinations. Pulmonary function tests were explained to the participants prior to measurement and a test was performed for adaptation with a spirometer (Quark b2, Cosmed S.r.l., Italy). The procedure required the patient to wear a nose clip and perform a forced expiratory maneuver. Before the mouthpiece was placed into the patient's mouth, patient was instructed to inhale completely then take a deep and rapid expiration as much as she could. Forced expiratory volume in 1 s (FEV1), forced vital capacity (FVC), forced expiratory flow at 25-75% vital capacity (FEF25-75), peak expiratory flow (PEF) were measured, and

FEV1/FVC ratio was calculated. Acceptability criteria were applied to all participants (10). The patient group was then treated with two cycles of 10 mg/day medroxyprogesterone acetate between 16 and 25 days of the cycle. Afterwards they were evaluated by PFT again. Demographic data such as age, gravida, parity, body weight, body mass index of the patients were recorded in the application. Patients were also tested for follicle-stimulating hormone (FSH), luteinising hormone (LH), 17 $\beta$ -estradiol (E2), values before and after progesterone treatment. FEV1, FVC, FEV1/FVC, FEF 25-75, PEF were also evaluated before and after treatment in PFT. The obtained data were analysed using SPSS 18.0 (SPSS, Chicago, IL) package programs. Continuous quantitative data are given as n, mean value and standard deviation, and qualitative data are expressed as n, median and 25th and 75th percentiles, respectively. Statistical analysis of independent measurements and continuous data showing normal distribution were analyzed by Paired Sample t-test. Mann-Whitney U, Wilcoxon test was used to analyze data with no normal distribution or the data of score variables. Chi-square test was performed for data sets in categorical structure. P value <0.05 was accepted as statistically significant.

## RESULTS

When the demographic characteristics of the patient and the control group were compared, it was observed that there was statistically significant difference between the two groups in terms of age, gravidity and parity. Median age was 20 in the patient group and 24.5 in the control group ( $p < 0.001$ ). However, body weight and body mass index (BMI) was not significantly different between the groups. Median weight was 61.5 kilograms in the patient group and 60.5 kg in the control group ( $p > 0.05$ ), median BMI was 24 kg/m<sup>2</sup> in the patient group and 23.4 kg/m<sup>2</sup> in the control group ( $p > 0.05$ ). Demographic characteristics of the patient group and control group are shown in table 1. Also, hormone values were

compared before and after the treatment in the patient group and the difference in hormone levels is considered as statistically significant ( $p < 0.001$ ) (Table 2). Pulmonary function tests were performed in the follicular phase before treatment and after 2 cycles of cyclic progesterone treatment in the patient group. PFT were performed in the control group when they applied for polyclinic examination at the follicular phase. The PFT results of the control group

were compared with the results of the patient group before the progesterone treatment. There was no statistically significant difference between the values obtained from the PFT in the two groups ( $p > 0.05$ ) (Table 3). Also, pre-treatment pulmonary function test values were compared with post-treatment values in the patient group. Post treatment FEV1 and FVC values increased after the treatment ( $p < 0.001$ ) (Table 4).

**Table 1.** Demographic and clinical characteristics of the study population

		Patient (PCOS) Group N=50 (%)	Control group N=50 (%)	P value
Age (years)		20(17.5-23.5)	24.5(21-29)	$p < 0.001$
Gravidity	0	30(60%)	10(20%)	$p < 0.001$
	1	6(12%)	15(30%)	
	2	9(18%)	19(38%)	
	3	4(8%)	6(12%)	
	4	1(2%)	0	
Parity	0	30(60%)	10(20%)	$p < 0.001$
	1	11(22%)	24(48%)	
	2	8(16%)	12(24%)	
	3	1(2%)	4(8%)	
Weight (kg)		61.5(52-71.5)	60.5(54-64.2)	$p > 0.05$
BMI (kg/m <sup>2</sup> )		24(21.4-29.3)	23.4(21.8-27.6)	$p > 0.05$

PCOS, Polycystic ovary syndrome; BMI, Body mass index

**Table 2.** Patients' (PCOS) hormonal characteristics before and after treatment

	Before Treatment	After Treatment	P value
FSH (mIU/mL)	7.3(5.8-8.3)	5.4(4.3-6.2)	$p < 0.001$
LH (mIU/mL)	11.8(8.6-14.7)	5.3(4.7-6.2)	$p < 0.001$
Estradiol (pg/mL)	77(48-95)	25(21-29)	$p < 0.001$

PCOS, polycystic ovary syndrome; FSH, follicle-stimulating hormone; LH, luteinising hormone

**Table 3.** Pulmonary function test results in the PCOS group before treatment and in the control group

	Patient (PCOS) Group (Before treatment) N=50	Control Group N=50	P value
FEV1	2.92±0.54	2.90±0.52	p>0.05
FVC	3.35±0.54	3.31±0.57	p>0.05
FEV1/FVC %	88.65 (85-92.6)	89.55 (85.5-92.15)	p>0.05

FEV1. forced expiratory volume in 1 second; FVC. forced vital capacity

**Table 4.** Pulmonary function test results in the PCOS group before and after progesterone treatment

	Patients (PCOS) Group Before Treatment N=50	Patients Group After Treatment N=50	P value
FEV1	2.84 (2.55-3.2)	3.23 (3-3.8)	p<0.001
FVC	3.33 (2.99-3.64)	3.62 (3.44-4.24)	p<0.001
FEV1/FVC %	88.65 (85-92.3)	92 (87-95)	p>0.05

FEV1. Forced expiratory volume in 1 second; FVC. forced vital capacity

## DISCUSSION

The present study provides evidence that progesterone supplementation results in better pulmonary function test results in patients with PCOS. Changes in the pulmonary function tests were evaluated in patients with PCOS after progesterone treatment and compared with the results of the control group. While the body weight and BMI were similar between the two groups, age, gravida and parity were found to be higher in the control group. This can be explained by the fact that oligo-ovulation is a common occurrence in women with PCOS and the duration of the conception is generally prolonged in these patients. As it is known, most women with PCOS and oligo-ovulation, require ovulation induction

treatments in order to have pregnancy and women with PCOS have an increased risk of pregnancy loss (11). No significant differences were reported between the study and control groups' pulmonary function tests before the progesterone treatment (p>0.05) (Table 3). Uçok et. al. (12), also could not find any difference at FEV1, FVC, FEF25-75 and PEF values between PCOS patients and normal controls .

Then, two cycles of 10mg/day medroxyprogesterone acetate treatment was given between the 16 and 25 days of the menstrual cycle in the patient (PCOS) group. The post-treatment FEV1 and FVC values were found to be significantly increased when compared both with the pre-treatment values of PCOS patients and with the control group. It can be the result of patient selection, which the PCOS

group and the control group were chosen from non-asthmatic patients. However, the mean FEV1/FVC values were not significantly different before and after the treatment ( $p > 0.05$ ). This can be due to increase at both FEV1 and FVC values at the same time. According to these findings, as the PCOS group and control group did not have bronchial obstruction at the beginning, there might be no real correction of bronchial obstruction with progesterone therapy. Nonetheless, the difference between pre-treatment and post-treatment FEV1 and FVC values of PCOS patients should be based on the overall increase of lung volumes and capacity after progesterone treatment. Many studies in the literature report that women with PCOS are prone to respiratory problems. However, the mechanisms underlying such disorders remain unclear. Premenopausal women have been reported to experience drops in peak flow and worsening of asthma symptoms before and during menses, often experiencing relief after the onset of progesterone therapy (13). Moreover, in a study conducted with hormone replacement therapy (HRT), mean values of FEV1 and FVC were significantly higher among current HRT users than noncurrent users in the entire population of women and among women without asthma, former smokers, and never smokers (14). Our findings are also compatible with that, we found PFT values increased with progesterone therapy.

However, Ucok et. al. (15) suggest that there were no significant differences in the pulmonary function tests between women with PCOS and healthy controls. Negative correlations between the pulmonary function tests and anthropometric measurements observed in healthy controls are absent in PCOS women and this may indicate a disruption of relationship between the upper body anthropometry and respiratory function. Their results suggest that the upper body anthropometry and respiratory function relations might have impaired in patients with PCOS and this situation might support the increased tendency for poor health status in patients with PCOS

. It has been shown that sex hormones play a role in the development of many physiological processes. There are many studies in the literature, showing that estrogen, progesterone and testosterone affect respiratory functions and effects of progesterone on respiration. As an example, progesterone reduces pulmonary inflammation, improves lung function, repairs the damaged lung epithelium, and promotes faster recovery following influenza A virus infection. Progesterone causes protection against severe outcome from influenza by inducing production of the epidermal growth factor, amphiregulin, by respiratory epithelial cells (16). Hyperventilation status during pregnancy is associated with increased progesterone levels. The findings of the Slatkovska et. al. (17) study support the hypothesis that phasic menstrual cycle changes in resting minute ventilation and PaCO<sub>2</sub> may be due to the stimulatory effects of progesterone, estradiol and the strong ion difference on ventilatory drive. In the luteal phase where the progesterone level is elevated, hyperventilation and decreased ETCO<sub>2</sub> have been shown. Some studies investigated the effect of progesterone on ventilation. Bayliss and Millhorn (18) showed that a progesterone receptor agonist, R5020, causes an increase in respiratory frequency. They revealed that respiratory response to progesterone is mediated at hypothalamic sites through an estrogen dependent progesterone receptor mediated mechanism requiring RNA and protein synthesis. The estrogen dependence of the respiratory response to progesterone is likely a consequence of the demonstrated induction of progesterone receptor mRNA and progesterone receptor in hypothalamic neurons by estrogen. In short, neural mechanisms underlying the stimulation of respiration by progesterone were similar to those mediating its reproductive effects. It has not been fully explained by which mechanisms the progesterone stimulates the respiration. There is upregulation of progesterone receptors in the brain and spinal cord after estrogen exposure in both men and females (19, 20). Based on the lesion studies, Feldman et. al.



(21) suggested that the respiratory stimulant effect of progesterone is due to stimulation of progesterone receptors in the hypothalamus after estrogen action. As our result; although the pulmonary function of PCOS patients is not different from that of the healthy female population, progesterone has been

shown to increase these values. However, studies should continue to show which mechanisms these hormones have affected. A better understanding of the effects of sex hormones on respiration may lead to the application of hormone therapies in respiratory problems.

## REFERENCES

1. Graupp M, Wehr E, Schweighofer N, Pieber TR, Obermayer-Pietsch B. Association of genetic variants in the two isoforms of 5 $\alpha$ -reductase, SRD5A1 and SRD5A2, in lean patients with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2011;157:175-179.
2. Goodarzi MO, Dumesic DA, Chazenbalk G, Azziz R. Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis. *Nat Rev Endocrinol*, 2011;7:219-231.
3. Vgontzas AN, Legro RS, Bixler EO, Grayev A, Kales A, Chrousos GP. Polycystic ovary syndrome is associated with obstructive sleep apnea and daytime sleepiness: role of insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001; 86:517.
4. Chatterjee B, Suri J, Suri JC, Mittal P, Adhikari T. Impact of sleep-disordered breathing on metabolic dysfunctions in patients with polycystic ovary syndrome. *Sleep Med*, 2014;15 (12), 1547-1553.
5. Zierau L, Gade EJ, Lindenberg S, Backer V, Thomsen SF. Coexistence of asthma and polycystic ovary syndrome: A concise review. *Respir Med*, 2016; 119:155-9.
6. Hart R, Doherty DA. The potential implications of a PCOS diagnosis on a woman's long-term health using data linkage. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(3):911-9.
7. Boukari R, Marcouiller F, Joseph V. Relative contribution of nuclear and membrane progesterone receptors in respiratory control. *Adv Exp Med Biol*, 2015;860:261-7. doi: 10.1007/978-3-319-18440-1\_30.
8. Real FG, Svanes C, Omenaas ER, Ant o JM, Plana E, Janson C, et al. Menstrual irregularity and asthma and lung function. *J Allergy Clin Immunol*, 120 (2007) 557e564.
9. Anonymous. Rotterdam ESHRE/ASRM Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, 2004;81:19-25.
10. Wanger J, Clausen JL, Coates A, Pedersen OF, Brusasco V, Burgos F, et al. Standardisation of the measurement of lung volumes. *Eur Respir J*, 2005;26:511-522.
11. Ke RW. Endocrine basis for recurrent pregnancy loss. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 2014;41(1):103-12. doi: 10.1016/j.ogc.2013.10.003.
12. Uçok K, Akkaya M, Genc A, Akcer S, Gonul Y, Cosar E, et al. Assessment of pulmonary functions and anthropometric measurements in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecological endocrinology : Gynecol Endocrinol*, 2010;26(11):827-32.

13. Benyon HLC, Garbett ND, Barnes PJ. Severe premenstrual exacerbations of asthma: effect of intramuscular progesterone. *Lancet*, 1988;370-372.
14. Carlson CL, Cushman M, Enright PL, Cauley JA, Newman AB. Hormone replacement therapy is associated with higher FEV1 in elderly women. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001;163(2):423-8.
15. Ucok K, Akkaya M, Genc A, Akcer S, Gonul Y, Cosar E, et al. Assessment of pulmonary functions and anthropometric measurements in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*, 2010;26(11):827-32.
16. Hall OJ, Limjunyawong N, Vermillion MS, Robinson DP, Wohlgemuth N, Pekosz A, et al. Progesterone-based therapy protects against influenza by promoting lung repair and recovery in females. *PLoS Pathog*, 2016; 12(9): e1005840. doi:10.1371/journal.ppat.1005840.
17. Slatkovska L, Jensen D, Davies GA, Wolfe LA. Phasic menstrual cycle effects on the control of breathing in healthy women. *Respir Physiol Neurobiol*, 2006;154:379-388.
18. Bayliss DA, Millhorn DE. Central neural mechanisms of progesterone action: application to the respiratory system. *J Appl Physiol*, 1992;73(2):393-404.
19. Tatsumi K, Mikami M, Kuriyama T, Fukuda Y. Respiratory stimulation by female hormones in awake male rats. *J Appl Physiol*, 1991;71:37-42.
20. Monks DA, Arciszewska G, Watson NV. Estrogen-inducible progesterone receptors in the rat lumbar spinal cord: regulation by ovarian steroids and fluctuation across the estrous cycle. *Horm Behav*, 2001;40:490-496.
21. Feldman JL, McCrimmon DR. Neural Control of Breathing. In: Squire LR, Bloom FE, McConnell SK, Roberts JL, Spitzer NC, Zigmond MJ, editors. *Fundamental Neuroscience*. 2nd ed. San Diego: Elsevier, Academic Press; 2003. pp. 967-990.

# Ankara İl Milli Eğitim Müdürlüğü'ne bağlı okullarda 2017-2018 eğitim öğretim yılında yapılan "Beyaz Bayrak İşbirliği Protokolü" uygulamalarının değerlendirilmesi

## Evaluation of the application of the "White Flag Cooperation Protocol" in the schools of National Education Directorate of Province of Ankara in 2017-2018 academic year

Asiye Çiğdem ŞİMŞEK<sup>1</sup>, Zuhul YILDIRIM<sup>1</sup>, Seçil ÖZKAN<sup>2</sup>

### ÖZET

**Amaç:** Okul çağı, çocukların fiziksel, bilişsel ve sosyal yönden büyüme ve gelişmelerinin hızlandığı, beslenme ve temizlik alışkanlıklarının geliştiği ve sağlıklı yaşamın temellerinin atıldığı bir dönemdir. Bu dönemde kazandırılacak hijyen alışkanlıkları birey olma yolundaki çocuğun gelişimi için oldukça önemlidir. Sağlık Bakanlığı ile Milli Eğitim Bakanlığı arasında, eğitim kurumlarının hijyen konusunda teşvik edilmesi, toplum sağlığının korunması ve geliştirilmesi, yaşam kalitesinin yükseltilmesi ve yeterli eğitim almış sağlıklı nesiller yetiştirilmesi amacıyla 2006 yılında "Beyaz Bayrak İşbirliği Protokolü" imzalanarak çalışmalar başlatılmıştır. Bu çalışmada Ankara'da "Beyaz Bayrak İşbirliği Protokolü" uygulamalarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Bu tanımlayıcı çalışmada, Ankara ilinde "Beyaz Bayrak İşbirliği Protokolü" çerçevesinde İl Sağlık Müdürlüğü ve İl Milli Eğitim Müdürlüğü yetkili personeli tarafından 2017-2018 eğitim ve öğretim yılında gerçekleştirilen denetimler sonucunda "Beyaz Bayrak Sertifikası" alan okullar değerlendirmeye alınmıştır.

### ABSTRACT

**Objective:** School age is a period in which children's physical, cognitive and social growth and development accelerate, nutrition and hygiene habits develop and the foundations of healthy life are laid. Hygiene habits that will be gained during this period are very important for the development of the child to be an individual. In 2006, White Flag Cooperation Protocol was signed between the Ministry of Health and the Ministry of National Education, in order to encourage education institutions to hygiene, to protect and improve public health, to improve the quality of life and to educate healthy generations with adequate training. In this study, it is aimed to evaluate the practices of "White Flag Cooperation Protocol" implemented in Ankara in 2017-2018 academic year.

**Methods:** In this descriptive study, in the framework of the White Flag Cooperation Protocol in Ankara province, the schools that received White Flag Certificate as a result of the audits conducted in 2017-2018 academic year, were evaluated by the Provincial Health Directorate and authorized personnel of the Provincial Directorate of National Education.

<sup>1</sup>Ankara Sağlık Müdürlüğü, Halk Sağlığı Hizmetleri Başkanlığı, Ankara  
<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Asiye Çiğdem ŞİMŞEK

Ankara İl Sağlık Müdürlüğü, Halk Sağlığı Hizmetleri Başkanlığı 06050 Ulus, Ankara - Türkiye  
Tel : +90 532 462 9028 E-posta / E-mail : cigdemsimsek2000@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 27.07.2018  
Kabul Tarihi / Accepted : 14.03.2019

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.19327

Şimşek AS, Yıldırım Z, Özkan S. Ankara İl Milli Eğitim Müdürlüğü'ne bağlı okullarda 2017-2018 eğitim öğretim yılında yapılan "Beyaz Bayrak İşbirliği Protokolü" uygulamalarının değerlendirilmesi. Turk Hij Den Biol Derg, 2019; 76(2): 211-220

**Bulgular:** Ankara'da İl Millî Eğitim Müdürlüğü'ne bağlı okullarda 2017-2018 eğitim ve öğretim yılında yapılan "Beyaz Bayrak İşbirliği Protokolü" uygulamaları değerlendirilmiştir. 2017-2018 eğitim ve öğretim yılında Ankara ilinde bulunan 2868 okulun %41,9 (1204)'u "Beyaz Bayrak ve Beyaz Bayrak Sertifikası" sahibi okul olmuştur.

**Sonuç:** Ülkemizde nüfusun beşte birini öğrenciler oluşturmaktadır. Okul çağı sağlık bilincinin oluşturulması, sağlıklı nesiller yetiştirilmesi için önemli bir zaman dilimidir. Bu nedenle okulların hijyenik donanımı ve çevre koşulları, temel sağlığın korunmasında büyük önem arz etmektedir. Ankara'daki okullarda "Beyaz Bayrak Sertifikası" müracaatında görülen artışla okulların hijyenik donanımı ve çevre koşullarının iyileştirilmesi sağlanmıştır. Ayrıca, önümüzdeki eğitim ve öğretim yılında "Beyaz Bayrak Sertifikası" alan okul sayısının artırılması, okulların hijyenik donanımı ve çevre koşullarının iyileştirilmesine yönelik eğitim ve araştırma çalışmalarının devam etmesi planlanmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Beyaz bayrak sertifikası, okul sağlığı, hijyen, çevre

**Results:** Application of the "White Flag Cooperation protocol" in the schools of national education directorate of province of Ankara in 2017-2018 academic year is evaluated. In 2017-2018 academic year, "White Flag Certificate" and the applicant of "White Flag Certificate" have seen an increase in the number of schools" and number of schools with White Flag Certificate are 1204 (41.9%).

**Conclusion:** In our country, one-fifth of the population is comprised of students. The creation of health awareness at school ages is an important time period for growing healthy generations. Therefore, hygienic equipment and environmental conditions of the school environment is of great importance in the protection of basic health care. With the increase in the application of the White Flag Certificate in the schools in Ankara province, the hygienic equipment and environmental conditions of the schools were improved. In addition, it is planned to continue the education and research activities in order to increase the number of schools receiving the in White Flag Certificate in the next academic year and to improve the hygienic equipment and environmental conditions of the schools.

**Key Words:** White flag, school health, hygiene, environment

## GİRİŞ

Okul çağı, çocukların fiziksel, bilişsel ve sosyal yönden büyüme ve gelişmelerinin hızlandığı, beslenme ve temizlik alışkanlıklarının geliştiği ve sağlıklı yaşamın temellerinin atıldığı bir dönemdir. Bu çağda verilecek eğitim birey olma yolundaki çocuğun gelişimi için oldukça önemlidir (1).

Okul; çocuk, genç ve yetişkinlerin daha sağlıklı, daha uzun, daha sosyal ve daha fazla üretken hayat sürmeleri amacıyla eğitim ve öğretim gördükleri bina ve kurumdur. Okul; kişiyi kendisine, içinde yaşadığı topluma ve tüm insanlığa yararlı, toplumsal bilinci

gelişmiş bir insan olması için eğitmeyi ve geleceğin sağlıklı toplumunu oluşturmayı amaçlamaktadır (2).

Okul, fiziksel özelliklerinin yanında bulunduğu çevreden ayrı düşünülemez. Okul çevresi, çocuğun sağlığı ve gelişiminde aile çevresinden sonra etki yapan ikinci önemli ortamdır (3). Okul çevresi içerisinde çocuklar ve gençler yaşamlarının önemli bir kısmını geçirirler. Okul, özel bir çevrede ve uygun öğrenim ortamı içinde çocukların yetişmesini ve gelişmesini sağlamaktadır. Okul ve ailenin işbirliği içinde olmasını gerektiren sağlıklı okul çevresinin,

çocuğun eğitimine uygun fiziksel ve sosyal gelişmeye yardımcı, tehlikelerden uzak bir ortam olması beklenir (4).

Temizlik; görünen kirlerin ortamdaki uzaklaştırılması olarak tanımlanırken; hijyen, sağlıklı ortamın korunması ve ortam mikroplarından arındırılması olarak tanımlanmaktadır. Temizlik, sağlığı korumanın birinci koşulu ve kuralıdır. Hijyen ise bir sağlık bilimi olup temel ilgi alanı, sağlığın korunması ve sürdürülmesidir. Bir başka şekilde tanımlanacak olursa hijyen, kişinin kendi sağlığını koruması için devam ettirmesi gereken öz bakım uygulamalarının tamamıdır. Hijyenin sağlanmasıyla, kişiler hastalık yapan mikroorganizmalardan arınmış olduğu için herhangi bir bulaşıcı hastalığı da başkalarına bulaştıramazlar (5).

Sağlık Bakanlığı ile Milli Eğitim Bakanlığı arasında 03.08.2006 tarihinde imzalanan protokolle, Milli Eğitim Bakanlığına bağlı örgün ve yaygın eğitim kurumlarının temizlik ve hijyen konusunda teşvik edilmesi, okul sağlığının daha iyi düzeye çıkarılması, yaşam kalitesinin yükseltilmesi ve yeterli eğitim almış sağlıklı nesiller yetiştirilmesi amaçlanmaktadır (6). Protokol 10.11.2010 ve 08.06.2015 tarihlerinde güncellenmiştir.

Projeye katılım gönüllülük esasıyla olup “Beyaz Bayrak” almak isteyen okullar, İl Milli Eğitim Müdürlüğüne yazılı dilekçe ile başvuru yapar. İl Beyaz Bayrak Değerlendirme Komisyonu başvuruyu değerlendirir. Komisyonun görevlendirdiği İl Sağlık Müdürlüğü ve İl Milli Eğitim Müdürlüğü personelinden oluşan dört kişilik denetim ekibi, başvuru yapan okulu en geç iki ay içerisinde ziyaret ederek genel olarak “Beyaz Bayrak Eğitim Kurumu Denetim Formu” ile pansiyonlu okulları ise “Beyaz Bayrak Pansiyonlu Okullar Denetim Formu” ile değerlendirir (6).

Eğitim öğretim yılı kapsamındaki her dönemin ilk ve son haftası dışındaki tarihlerde ziyaret edilen okul, formun içeriğinde bulunan okul çevresi, bina içi, koridorlar, sınıflar, idari birim, öğretmen odası, kütüphane, spor salonu, tiyatro salonu, atölyeler,

laboratuvarlar, tuvalet ve lavabolar, içme suyu, kantin, yemekhane, ilk yardım odası ve diğer bölümlerin temizlik ve hijyen açısından denetlenir.

Değerlendirme sonucu, okul sağlığının iyileştirilmesi hususunda teşvik edilerek gayret gösteren ve değerlendirme sonucuna göre 100 puan üzerinden 90 ve üzeri puan alan okullara; üç yıl süre ile “Beyaz Bayrak, Beyaz Bayrak Sertifikası, Pirinç Levha” İl Sağlık Müdürü ve İl Milli Eğitim Müdürü tarafından onaylanarak verilir.

Bu çalışmada, Ankara İlinde 2017-2018 eğitim ve öğretim yılında “Beyaz Bayrak İşbirliği Protokolü” uygulamalarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Okul yüzdesi hesaplanırken okul sayıları Ankara İl Milli Eğitim Müdürlüğü'nün web sayfasından alınmıştır (7).

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu tanımlayıcı çalışmada, Ankara ilinde “Beyaz Bayrak İşbirliği Protokolü” çerçevesinde İl Sağlık Müdürlüğü ve İl Milli Eğitim Müdürlüğü'nün yetkili personeli tarafından 2017-2018 eğitim öğretim yılında gerçekleştirilen ziyaretler sonucunda, “Beyaz Bayrak Eğitim Kurumu Denetim Formu” ya da “Beyaz Bayrak Pansiyonlu Okullar Denetim Formu” ile denetlenen okulların özellikleri değerlendirilmiştir.

## BULGULAR

Ankara ilinde bulunan “Beyaz Bayrak ve Sertifika” sahibi olan okul yüzdesi (sertifika geçerlilik süresi dahilinde olan tüm okullar) 2013-2014 eğitim ve öğretim yılında %35,1 (806) iken 2017-2018 eğitim ve öğretim yılında %41,9 (1204) olmuştur. (Tablo 1).

Yıllar içerisinde beyaz bayrak ve sertifika alma yüzdesi giderek artmaktadır. Bu artış istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p < 0,05$ ) ve bu fark 2013-2014 eğitim öğretim yılından kaynaklanmaktadır.

2013-2014 eğitim öğretim yılında %59,6 ile en düşük beyaz bayrak ve sertifika alma sıklığı saptanmıştır. Yıllar içerisinde kriterleri yerine getirmede

görülen artışta farkındalık toplantılarının ve teşvik faaliyetlerinin etkisi olduğu düşünülmektedir (Tablo 1).

2017-2018 eğitim ve öğretim yılında beyaz bayrak almak için başvuran toplam 498 okulun 450'si Beyaz Bayrak ve Sertifikası almaya hak kazanmıştır (Tablo 2).

**Tablo 1.** Ankara İl Milli Eğitim Müdürlüğüne Bağlı Okulların Yıllara (2013-2018) göre "Beyaz Bayrak ve Beyaz Bayrak Sertifikası" Alma Durumu

Eğitim/ Öğretim Yılı	Okul Sayısı	BB İşbirliği Protokolü Kapsamında Başvuran Okul Sayısı	İlk Kez BB Alan Okul Sayısı	BB Süresi Dolup Tekrar Başvuran Okul Sayısı	BB Alamayan Okul Sayısı	BB Alan Okul Sayısı ve Yüzdesi (%)*	Kümülatif BB Alan Okul Sayısı (Sertifika Geçerlilik Süresi Dahilinde Olan Tüm Okullar)	Kümülatif BB Yüzdesi (%) (BB Alan/ Top. Okul Sayısı)
2013-2014	2292	476	117	167	192	284 (59,6)	806	%35,2
2014-2015	2375	210	80	85	45	165 (78,6)	855	%36,0
2015-2016	2631	337	155	132	50	287 (85,1)	974	%37,1
2016-2017	2694	434	196	174	64	370 (85,2)	1215	%45,1
2017-2018	2868	498	259	191	48	450 (90,3)	1204	%42,0

Ki kare: 167,1 p<0,0001

\*Başvuran okulların BB alma yüzdesi

**Tablo 2.** Ankara İlinde 2017-2018 Eğitim Öğretim Döneminde Beyaz Bayrak Alan Okulların Bazı Özellikleri

	Okul Sayısı	BB Başvuran Okul Sayısı ve Yüzdesi (%)*	BB Alan Okul Sayısı ve Yüzdesi (%)**	Ki Kare Testi/ p Değeri #
<b>OKUL ÖNCESİ TOPLAMI (K+Ö)</b>	487	36 (7,3)	35 (97,2)	
<b>İLKOKUL TOPLAMI (K+Ö)</b>	821			
İlkokul (Kamu)	785	131 (16,7)	114 (87,0)	39,4 0,0001
İlkokul (Özel)	36	25 (69,4)	24 (96,0)	
##Fisher's kesin testi p=0,3479				
<b>ORTAOKUL TOPLAMI (K+Ö)</b>	791			
Ortaokul (Kamu)	755	130 (17,2)	109 (83,8)	37,1 0,0001
Ortaokul (Özel)	36	28 (77,7)	26 (92,8)	
##Fisher's kesin testi p=0,3553				
<b>ORTAÖĞRETİM TOPLAMI (K+Ö)</b>	769			
Lise (Kamu)	732	125 (17,0)	121 (96,8)	46,06 0,0001
Lise (Özel)	37	23 (62,1)	21 (91,3)	
##Fisher's kesin testi p=0,4688				
<b>ÖRGÜN EĞİTİM TOPLAMI (K+Ö)</b>	<b>2868</b>	<b>498</b>	<b>450</b>	

\*Kamu ve özel okul sayısı içinde başvuru yüzdesi

\*\*Başvuran kamu ve özel okullardan BB almaya hak kazananların yüzdesi

#Kamu ve özel okul sayısı içinde başvuru durumunun karşılaştırılması

##Kamu ve özel okulların BB almaya hak kazanma durumunun karşılaştırılması

Beyaz bayrak ve sertifikası için başvuru yapma yönünden; kamu ve özel okulların ilköğretim, orta ve lise bölümlerinin tümünde istatistiksel olarak bir anlam varken ( $p < 0,05$ ), başvuran okulların değerlendirilmesi sonucunda beyaz bayrak ve sertifika sahibi olma açısından kamu ve özel okullar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ( $p > 0,05$ ) (Tablo 2).

Ankara ilinde 2017-2018 eğitim öğretim döneminde “Beyaz Bayrak ve Sertifika” sahibi olan okulların ilçelere göre dağılımı incelendiğinde Çankaya ilçesinde “Beyaz Bayrak ve Sertifika”

almaya hak kazanan toplam 72 okulun, 33’ünün ilk defa başvurduğu, 39’unun ise sertifika tekrarı için başvurduğu görülmektedir (Tablo 3).

2017-2018 Eğitim öğretim döneminde müracaat eden ve beyaz bayrak ve sertifika alamayan 48 okulun en çok gerçekleştiremedikleri kriterler; su numunelerinin İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelikte belirtilen mikrobiyolojik şartları taşımaması ve sınıflar, kantin/kooperatif/yemekhane ile tuvaletlerin temizliğinin periyodik olarak yapıldığına dair çizelge tutulmamasıdır (Tablo 4).

**Tablo 3.** Ankara ilinde 2017-2018 Eğitim Öğretim Döneminde Beyaz Bayrak Alan Okulların İlçelere Göre Dağılımı

İlçe	2017-2018 Eğitim/ Öğretim Döneminde BB Alan Okul Sayısı			2017-2018 Eğitim/ Öğretim Döneminde BB Alamayan Okul Sayısı
	İlk Alan	Sertifika Tekrarı	Toplam	
Akyurt	2	5	7	0
Altındağ	22	12	34	15
Ayaş	1	5	6	0
Bala	4	2	6	5
Beypazarı	6	5	11	3
Çamlıdere	4	0	4	0
Çankaya	33	39	72	0
Çubuk	14	7	21	5
Elmadağ	4	2	6	0
Etimesgut	13	8	21	8
Evren	0	0	0	0
Gölbaşı	27	14	41	4
Güdül	1	7	8	0
Haymana	0	0	0	0
Kahramankazan	12	5	17	2
Kalecik	0	4	4	0
Keçiören	28	16	44	1
Kızılcahamam	5	2	7	0
Mamak	18	16	34	0
Nallıhan	6	0	6	2
Polatlı	14	4	18	0
Pursaklar	3	7	10	0
Sincan	21	19	40	2
Şereflikoçhisar	12	4	16	1
Yenimahalle	9	8	17	0
<b>Toplam</b>	<b>259</b>	<b>191</b>	<b>450</b>	<b>48</b>

**Tablo 4.** 2017-2018 Eğitim Öğretim Döneminde Başvuran ve Beyaz Bayrak Alamayan 48 Okulun Gerçekleştiremedikleri Bazı Kriterler

Beyaz Bayrak Kriterleri	Kriteri Gerçekleştirememiş Okul Sayısı ve Yüzdesi (%) *
Kantin/Kooperatif/Yemekhane: Fiziki koşullar, havalandırma ve aydınlatma yeterlilik durumu	20 (41,6)
Kantin/Kooperatif/Yemekhane: Kullanılan araç, gereç, malzeme ve ekipmanlar temizlik durumu	24 (50,0)
Kantin/Kooperatif/Yemekhane: Gıda hazırlama işi yapan personel eldiven, önlük ve bone kullanma durumu	27 (56,2)
İçme Suyu: Okul su deposu iç yüzey kaplaması uygundur, tahliye vanası durumu	7 (14,6)
İçme Suyu: Okul su deposu temizliği düzenli olarak yapılmakta ve kayıt durumu	34 (70,8)
İçme Suyu: Kuyu/şebeke su numuneleri, **İTASHY'te belirtilen mikrobiyolojik şartları taşıma durumu	48 (100)
Tuvalet ve Lavabolar: Tuvalet pencerelerinde sineklik durumu	40 (83,3)
Tuvalet ve Lavabolar: Tuvaletler temizlik durumu	28 (58,3)
Tuvalet ve lavabolar: Her kabinde çalışır sifon, tuvalet kağıdı, askı, çöp kovası ve kova içinde çöp poşeti durumu	32 (66,6)
Tuvalet ve lavabolar: Tuvalet ortak alanında sıvı sabun, kağıt havlu/kurutma makinesi, çöp kovası ve kova içinde çöp poşeti durumu	30 (62,5)
Diğer: Sınıflar, kantin/kooperatif/yemekhane ve tuvaletlerin temizliğinin periyodik olarak yapıldığına dair çizelge durumu	47 (97,9)
Diğer: Eğitim öğretim yılı içerisinde öğrencilere yönelik sağlık, hijyen, çevre sağlığı vb. eğitim verilme durumu	42 (87,5)
Sınıflar: Her sınıfta kapaklı çöp kovası ve kova içinde çöp poşeti durumu	29 (60,4)
Koridorlar: Az kullanılan alanlar (merdiven altı, çatı boşluğu vb.)	25 (52,1)
Koridorlar: Sağlık, hijyen, çevre sağlığı vb. konuları içeren okul panosu durumu	41 (85,4)
Bina İçi: Zararlılarla mücadele durumu	44 (91,6)

\*Başvuru sonrası yapılan değerlendirmede BB alamayan okulların gerçekleştiremedikleri bazı kriterlerin yüzdesi

\*\*İTASHY: İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik



## TARTIŞMA

Toplum ve birey sağlığını korumak, kaliteli ve sağlıklı bir yaşam sürmek, temizlik ve hijyen kurallarına uymakla mümkündür. Eğitimin asli görevlerinden olan sağlıklı nesiller yetiştirmek; hijyen kuralları ve temizlik uygulamalarının doğru bir şekilde verilmesine bağlıdır. Özellikle pek çok çocuğun bir arada bulunduğu okullar, bulaşıcı hastalıklara, bakterilerin oluşumuna, parazitlerin yayılmasına, dolayısıyla hijyenik olmayan ortak paylaşım alanlarına sahip yerlerdir.

Çocuğun hasta olması onu gelişimsel olarak etkilediği kadar eğitim ve öğrenimi de etkilemektedir. Hasta olan çocuk okula devam edememekte, okul başarısı düşmektedir (8-11). Yapılan bir çalışmada, enfeksiyon sıklığı ile hijyen alışkanlıkları arasında yakın bir ilişki olduğu ortaya konulmuştur (12).

Ülkemizde ve dünyada görülen hastalıkların çoğunluğunu enfeksiyon hastalıkları oluşturmakta olup halk sağlığını yakından ilgilendiren bir konudur. Kitiş ve Bilgili (13) yaptıkları çalışmada, özellikle ortak kullanım alanlarında el hijyeni davranışının yeterli düzeyde olmadığını görmüşlerdir.

Türkiye Sağlık Raporu sonuçlarına göre, 7-14 yaş grubu çocukların en çok yaşadıkları hastalık sorunu enfeksiyona bağlı hastalıklardır. Okul döneminde artan bu hastalıklarda okul ortamlarındaki hijyen uygulamalarındaki yetersizlikler etkili olmaktadır (13).

Özellikle okul tuvaletleri enfeksiyonların oluşmasında ortak bir yayılma alanı olarak görülmektedir. Temiz su, el hijyeni ve düzenli temizlik uygulamaları ile tuvaletlerden bulaşan mikrop ve parazitlerle oluşacak enfeksiyonların göreceli olarak önüne geçilebilmektedir.

İyi tasarlanmamış tuvaletler, temiz ve kirli suların gideri, ortak dokunulan yerlerin sürekli dezenfekte edilmemesi, su, sabun tuvalet kağıdı ve kağıt havlu kullanımının olmaması vb. hastalıklara neden olan durumlardır (14).

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi öğrencileriyle okul sağlığı konusunda yapılan bir çalışmada; birinci sınıf öğrencilerince beyaz bayraklı okullar ağının genişletilmesi ve tüm okulların denetlenmesi önerilmiştir (15).

Bu sorunları öngören Sağlık Bakanlığı ve Milli Eğitim Bakanlığı, “Beyaz Bayrak Projesi” ile okullarda temizlik ve hijyenin teşvik edilmesi için bir denetim mekanizması oluşturmuş, yapılan denetimlerle belli bir puanı alan okullara “Beyaz Bayrak, Sertifikası ve Piriç Levha” vererek bütün okullarda ortak bir uygulamaya ulaşılmışını hedeflemiştir.

Ayrıca sağlıklı beslenme ve hareketli yaşamın teşvik edilmesi, bu konuda yapılan iyi uygulamaların desteklenmesi ve okul ortamı ve öğrenci sağlığının geliştirilmesi amacıyla Sağlık Bakanlığı tarafından 2010 yılında başlatılan “Beslenme Dostu Okul Programı” koşullarından biri de okulun “Beyaz Bayrak ve Beyaz Bayrak Sertifikası” almasıdır (16).

Erzurum merkezindeki bazı okullardaki lavabolardan akan suların mikrobiyolojik yönden uygun iken, bu okulların lavabo ve tuvaletlerindeki musluk başlarından alınan sürüntü örneklerinde ise bakteri bulaşının olduğu belirlenmiştir. Bunun da toplum sağlığı ve kişisel temizlik alışkanlığı açısından önemli olduğu ortaya çıkmaktadır (17).

Dumlupınar Üniversitesi Eğitim Fakültesince yapılan bir çalışmada ise örnekleme okullarda temizlik ve sarf malzemelerinin büyük ölçüde bulunmadığı ve öğrencilerin tuvaletlerin kullanıma ilişkin herhangi bir eğitim almadıkları belirtilmiştir (18).

Mersin ili Mezitli ilçesinde bulunan okul kantinlerinin gıda güvenliği ve hijyen koşulları bakımından değerlendirilmesi çalışmasında kantinlerin %60'ında zararlılara karşı önlem alınmadığı tespit edilmiştir (19).

Okullar, öğrencilerin yaşamlarında önemli yıllarını geçirdikleri kurumlardır. Bu anlamda düşünüldüğünde öğrencilerin hem iyi bir eğitim ve öğretim alması hem de sağlıklı ilgili gerekli bilinci kazanması önemlidir.

Çalışmamızda, okullarda görevli temizlik personeli sayısının yetersiz olduğu, mevcut personelin temizlik ve hijyen konusunda yeterli bilgiye sahip olmadığı, okullarda temizlik ve sarf malzemelerinin yetersiz olduğu, öğrencilerin hijyen eğitimi ve tuvaletleri kullanım alışkanlıklarına ilişkin herhangi bir eğitim almadığı gibi durumlarla karşılaşmıştır.

Bu gibi durumların olumlu yönde geliştirilebilmesi için kaynak olarak kamu kurumlarının yanı sıra okul aile birliklerinin de katkısıyla; okul tuvaletlerinde çalışmayan sifon, çeşme, pisuvar, tuvalet, kapı vb. bakım ve tamirinin mutlaka yapılması, tuvaletlerin havalandırılması, her teneffüs öncesi bütün tuvalet öğelerinin dezenfekte edilmesi, çocuklara tuvalet ve el hijyeni hakkında periyodik olarak uygulamalı eğitim verilmesi, tuvaletlere hijyen kuralları ile ilgili görsel bilgilendiricilerin konulması ve tuvalet sarf malzemelerinin kullanımının kontrol edilmesinin katkısının olacağı şüphesizdir.

## SONUÇ

Ülkemizde nüfusun beşte birini öğrenciler oluşturmaktadır. Okul çağında sağlık bilincinin oluşturulması sağlıklı nesiller yetiştirilmesinde önemli bir adımdır. Bu nedenle okulların hijyenik donanımı ve çevre koşullarının düzenlenmesi temel sağlığın

korunmasında büyük önem arz etmektedir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ışığında önerilerimiz aşağıda sunulmuştur.

Çalışmamızda, Ankara ilinde 2017-2018 eğitim ve öğretim yılına ait “Beyaz Bayrak ve Beyaz Bayrak Sertifikası” alan okullar değerlendirilmiştir. İlimizde projeye gönüllü müracaat eden okul sayısı her geçen yıl artmaktadır. İlimiz “Beyaz Bayrak ve Beyaz Bayrak Sertifikası” bulunan okul yüzdesi %41,9 olup ülkemiz ortalaması %41,8 ile uyumlu olduğu görülmektedir. Bu yüzdenin yükseltilmesi amacıyla okulların gönüllü olarak başvuru yapmalarının sağlanması için işbirliği çalışmaları kapsamında kişisel temizlik ve bakım başta olmak üzere çevre temizliğine yönelik bilgilendirici seminerler verilmektedir.

İlimiz okulların başvurularında görülen artışla, okulların hijyenik donanımı ve çevre koşullarının iyileştirilmesi sağlanmıştır. “Beyaz Bayrak ve Beyaz Bayrak Sertifikası” alan okul sayısının artırılması, okulların hijyenik donanımı ve çevre koşullarının iyileştirilmesine yönelik eğitim ve araştırma çalışmalarımız devam edecektir.

Ayrıca “Beyaz Bayrak Projesi”ni değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma, Milli Eğitim Bakanlığı ve Sağlık Bakanlığının 2006 yılından beri birlikte yürüttükleri proje konusunda ilk çalışmalardan biri olması açısından son derece önem taşımaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Arabacı İ. Ortaöğretim kurumlarında sağlık hizmetlerinin yönetici, öğretmen ve öğrenci görüşlerine göre incelenmesi. *Eğt Bil*, 2010; 35(158): 101-104.
2. Güler G, Kubilay G. Bir ilköğretim okulu öğrencilerinin fiziksel bakım sorunlarının belirlenmesi. *CÜ Tıp Fak Derg*, 2004; 26(2): 60-65.
3. Akın A, Hodoğlugil N, Koçoğlu G, Supramaniam D, Aydın Y, Bacanlı A, ve ark. Altındağ merkez sağlık ocağı bölgesindeki beş ilköğretim okulunda okul sağlığı uygulamalarının değerlendirilmesi. *Top Hek Bül*, 2010; 9(3): 32-36.
4. Çivi S, Koruk İ. Konya ili hasanköy sağlık ocağı bölgesindeki ilköğretim okulu 1. Sınıf öğrencilerinin genel sağlık düzeyi. *Türk Hij Den Biy Derg*, 2003; 60(3): 87-94.
5. Şimşek Ç, Piyal B, Tüzün H, Çakmak D, Turan H, Seyrek V. Ankara il merkezinde bazı lise öğrencilerinin kişisel hijyen davranışları. *TAF Prev Med Bull*, 2010; 9(5): 433-440.
6. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. Okullarda Beyaz Bayrak. <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/cevresagligi-ced/ced-birimi/405-okullarda-beyaz-bayrak>, (Erişim Tarihi:15.12.2018).
7. Ankara İl Milli Eğitim Müdürlüğü. 2017-2018 yılı eğitim istatistikleri. [https://ankara.meb.gov.tr/istatistik/bilgiler/2017-2018\\_yili\\_egitim\\_istatistikleri/il\\_ozet\\_tablo\\_resmi\\_ozel](https://ankara.meb.gov.tr/istatistik/bilgiler/2017-2018_yili_egitim_istatistikleri/il_ozet_tablo_resmi_ozel), (Erişim Tarihi:15.12.2018).
8. Gündüz S, Çizmeci NM, Kanburoğlu MK. Okul öncesi eğitim kurumlarındaki öğretmenlerin çocuk sağlığı konusundaki bilgi düzeyleri. *Türkiye Çocuk Hast Derg*, 2013; 1: 21-26.
9. Kaya M, Aslan D. Ankara'da bir ilköğretim okulunda el yıkama konusunda bir müdahale çalışması. *Erciyes Tıp Derg*, 2009, 31(2): 135-143.
10. Önsüz MF, Hıdıroğlu S. İstanbul'da farklı iki ilköğretim okulundaki öğrencilerin kişisel hijyen alışkanlıklarının belirlenmesi. *ADÜ Tıp Fak Derg*, 2008; 9: 9-17.
11. Özbaş M. İlköğretim okullarında öğrenci devamsızlığının nedenleri. *Eğt Bil*, 2010; 35(156): 32-44.
12. Hammond B, Ali Y, Fendler E, Dolan M, Donovan S. Effect of hand sanitiser use on elementary school absenteeism. *Am J Infect Control*, 2000; 28(5): 340-346.
13. Kitiş Y, Bilgili N. İlköğretim öğrencilerinde el hijyeni ve el hijyeni eğitiminin etkinliğinin değerlendirilmesi. *Maltepe Üni Hemşirelik Bil Sanatı Derg*, 2011; 4(1): 93-102.
14. Özcan C, Kılınc S, Gülmez H. Türkiye'de okul sağlığı ve yasal durum. *Ankara Med J*, 2013; 13(2): 71-81.
15. Hassoy H, Mandıracıoğlu A, Ergin I, Durusoy R, Davas A. Tıp fakültesi öğrencilerinin okul sağlığı eğitim programı: Ege Üniversitesi örneği. *TAF Prev Med Bull*, 2011; 10(6): 1-8.
16. Şimşek Ç, Şenlik Z, Özdemirhan T, Bastem Ü, Yalçinkaya E, Kalbur N. Ankara ilinde beslenme dostu okul programı sonuçlarının değerlendirilmesi. 18. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi. 05-09 Ekim 2015, Konya/Türkiye. 2015:314-315.

17. Yılmaz A, Uslu H, Ayyıldız A. Erzurum merkezindeki bazı okullardaki lavabo-tuvalet muslukları ve sularının mikrobiyolojik yönden incelenmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2014; 71(2): 75 - 80.
18. Bayındır N, Özel A. İlkokul öğrencilerinin tuvaletleri hijyenik kullanma durumlarının belirlenmesi. UTEB, 2016; 4(6): 41-47.

19. Harmanoğulları L, Yapıcı G. Bir ilçede bulunan okul kantinlerinin hijyen koşulları ve gıda güvenliği açısından değerlendirilmesi. Turk J Public Health, 2018;16(2): 117-130.

## Biyolojik olmayan kompleks ilaçlar

### Non-biological complex drugs

Büşra CESUR<sup>1</sup>, Devrim DEMİR-DORA<sup>1</sup>

#### ÖZET

Biyolojik olmayan kompleks ilaçlar son yıllarda yeni bir ilaç grubu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu kompleks ilaçlar kimyasal ve biyolojik ilaç sınıfına girmeyen, etkin maddesi homo-moleküler yapıda olmayan, son teknoloji fizikokimyasal analitik yöntemlerle izole edilemeyen, bütünüyle miktar tayini yapılamayan ve karakterize edilemeyen yapılardan oluşan, kimyasal olarak sentezlenemeyen, biyolojik olmayan, çoğunlukla nanopartiküler sistemlerle kompleks halde bulunan tıbbi ürünlerdir. Biyolojik olmayan kompleks ilaçlar lipozomları, glatiramoitleri, demir karbonhidrat komplekslerini, polimerik miselleri ve nano-ilaçları kapsamaktadır. Bu ilaçlar, hazırlama teknolojisi açısından biyolojik ve kimyasal ilaçlardan farklılıklar gösterirler. Biyolojik olmayan kompleks ilaçların üretimi sırasında ortaya çıkan en büyük problem üretim sürecinin kontrol edilememesi, dolayısıyla seriler arasında farklılıkların olmasıdır. Biyobenzer ürünler gibi bu ürünlerde de her farklı serinin üretiminde aynı değil, benzer ürün elde edilmektedir. Biyolojik olmayan kompleks ilaçların boyut ve boyut dağılımı, yüzey yükü ve bileşimi gibi fizikokimyasal özellikleri biyolojik sistemlerle olan etkileşimlerine, dolayısıyla da biyolojik aktivitelerine etki eden faktörlerdir. Canlı kaynaklardan elde edilmemiş olsalar da, biyolojik ilaçlar gibi immünojenisiteye ve moleküler

#### ABSTRACT

Non-biological complex drugs have emerged as a new drug group in recent years. These complex drugs are medicinal products, not being a biological or chemical medicine, where the active substance is not a homo-molecular structure, but consists of different structures that cannot be isolated and fully characterized by state of the art physicochemical analytical methods, not synthesized chemically, not biological and often complex with nanoparticle systems. Non-biological complex drugs include liposomes, glatiramoids, iron carbohydrate complexes, polymeric micelles and nano-drugs. These drugs differ from biological and chemical medicines in terms of preparation technology. The major problem that arises during the production of non-biological complex drugs is the inability to control the production process and therefore the differences between the series. As biosimilar products, similar products are obtained in every different production series. Physicochemical properties, such as size and size distribution, surface charge and composition of non-biological complex drugs are factors that effects interaction with biological systems and thus their biological activities. Although not derived from living sources, they have immunogenicity and molecular complexity like biological drugs. Minor changes in

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Antalya



İletişim / Corresponding Author : Devrim DEMİR-DORA

Akdeniz Üni. Tıp Fakültesi Dekanlık Binası B-Blok Kat: 4 Konyaaltı 07070 Antalya - Türkiye  
Tel : +90 532 413 34 77 E-posta / E-mail : devrimdemirdora@akdeniz.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 14.09.2018  
Kabul Tarihi / Accepted : 24.12.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.95770

Cesur B, Dora DD. Biyolojik olmayan kompleks ilaçlar  
Türk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(2): 221-228

kompleksliğe sahiptirler. Bu tıbbi ürünlerin üretim sürecinde ortaya çıkan küçük değişiklikler bile istenmeyen immün sistem yanıtlarına, güvenlilik sorunlarına ve terapötik etkilerinin azalmasına neden olabilir. Bu ilaçların ruhsatlandırılmasına ilişkin gereklilikler ulusal ve uluslararası yasal düzenlemelerde tam olarak kesinleşmiş değildir. Biyolojik olmayan kompleks ilaçlarla ilgili yasal düzenlemelerde Avrupa İlaç Ajansı (EMA) ve FDA (Gıda ve İlaç Dairesi) arasında farklılıklar bulunmaktadır. Bu nedenle bu ürünlerin etkili ve güvenli şekilde kullanılabilmesi için global harmonizasyon ile gereklilikler ortaya konmalı, onay sürecinde ve sonrasında izlenmesi gereken kılavuzlar yayımlanmalıdır. Bu ürünlerle ilgili yapılan farmakodinamik, farmakokinetik ve advers etki konusundaki çalışmalar yetersizdir. Bu derlemede; lipozomlar, glatiramoitler, demir karbonhidrat kompleksleri ve polimerik miseller ile ilgili genel bilgiler sunulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Biyolojik olmayan kompleks ilaç, lipozom, glatiramoit, demir karbonhidrat kompleksi, polimerik misel, nano-ilaç

the production process of these medicinal products can cause adverse immune system responses, safety problems, and reduced therapeutic efficacy. The requirements for the registration of these drugs in national and international legal regulations are not fully established. There are differences between the legal regulations of EMA (European Medicines Agency) and FDA (U.S. Food and Drug Administration) about non-biological complex drugs. Therefore, in order to be used these products effectively and safely, requirements should be set out the with global harmonization and the guidelines should be published to be followed during and after the approval process. Pharmacodynamic, pharmacokinetic and adverse effect studies on these medicinal products are inadequate. In this review, general information about liposomes, glatiramoids, iron carbohydrate complexes and polymeric micelles are presented.

**Key Words:** Non-biological complex drug, liposome, glatiramoid, iron carbohydrate complex, polymeric micelle, nano-drug

## GİRİŞ

Biyoteknoloji ve nanoteknoloji alanındaki gelişmelerle ilaç teknolojisinde yenilikler sağlanarak kompleks ilaçlar ve kopyaları geliştirilmiş; ilaçların sınıflandırılmasında da kimyasal ve biyolojik ilaçların yanısıra “Biyolojik Olmayan Kompleks İlaçlar (Non-Biological Complex Drugs - NBCDs)” kavramı ortaya çıkmıştır (1).

Küçük molekül yapısındaki ilaçlar, hastalıkların tedavisinde semptomatik pek çok fayda sağlasa da birçok ciddi koşulun meydana geldiği, kanserden otoimmün hastalıklara kadar değişen durumlarda, biyolojik ve biyolojik olmayan kompleks ilaçlar daha iyi yanıtlar oluşturmaktadır (2).

Biyolojik olmayan kompleks ilaçlar adından da anlaşılacağı gibi karmaşık ilaç ürünleridir ancak “biyolojik ilaç” sınıfına da girmemektedir. Bu ilaçlar,

diğer farmasötik bileşenler kadar küçük yapılarda bulunmazken, oldukça karmaşık özelliğe sahiptirler. Hem küçük moleküllerden hem de biyolojik terapötiklerden;

- Homo-moleküler yapıda olmamaları,
- İzole edilemeyen ve bütünüyle fizikokimyasal analitik yöntemlerle karakterize edilemeyen farklı yapılardan oluşmaları,
- Yapılarının büyük olması,
- Pek çoğunun nanopartikül ile kompleks halde olması,
- Biyolojik bir ürün olmamaları,
- Kimyasal olarak sentezlenmemeleri

gibi özelliklerinden dolayı farklılık gösterirler (3-5).

Biyolojik olmayan kompleks ilaçların bileşimi, kalitesi ve in vivo etkinliği, etkin maddenin ve aynı zamanda formülasyonun üretim süreciyle yakından ilişkilidir. Yapılarının tayin edilebilmesi ve biyolojik aktivitelerinin belirlenebilmesi için gelişmiş analitik yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Biyolojik ürünler gibi fizikokimyasal özellikleri tam olarak karakterize edilemediğinden ve üretim sırasında meydana gelen küçük değişikliklere karşı oldukça hassas olduklarından yapılarını ve işlevlerini anlamak oldukça zordur. Biyolojik olmayan kompleks ilaçların elde edilmesinde ortaya çıkan en büyük problem üretim sürecinin kontrol edilememesi ve seriler arasında farklılıkların olmasıdır. Her farklı seri üretimde aynı değil, benzer ürün elde edilmektedir (5, 6).

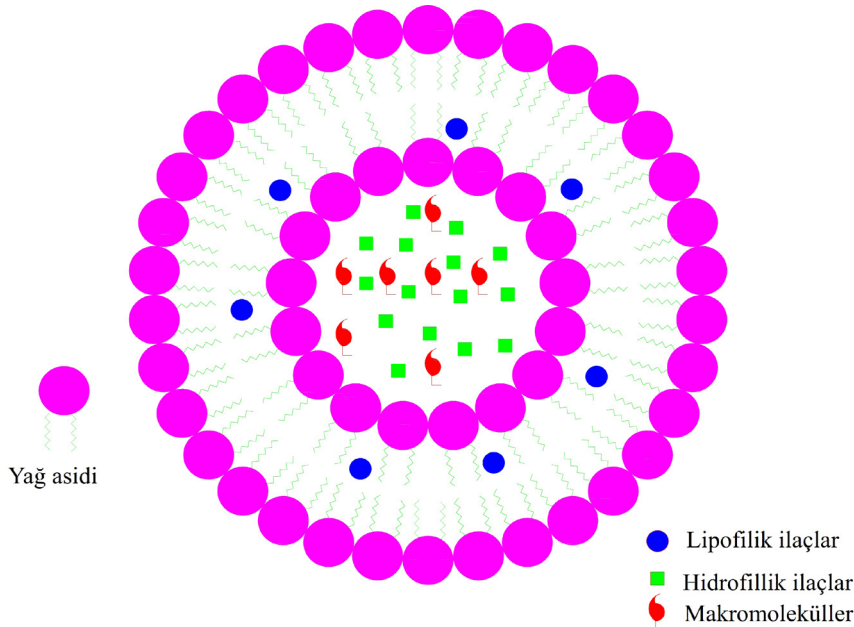
Biyolojik olmayan kompleks ilaçların boyut ve boyut dağılımı, yüzey yükü ve bileşimi gibi fizikokimyasal özellikleri biyolojik sistemlerle olan etkileşimlerine, dolayısıyla da biyolojik aktivitelerine etki eden faktörlerdir (7). Canlı kaynaklardan elde edilmemiş olsalar da biyolojik ilaçlar gibi immünojeniteye ve moleküler kompleksliğe sahiptirler. Bunun yanı

sıra ufak değişiklikler; istenmeyen immün sistem yanıtlarına, güvenlilik sorunlarına ve terapötik etkilerinin azalmasına neden olabilir (2). Ulusal ve uluslararası yasal düzenlemelerde bu ilaçların ruhsatlandırılmasına ilişkin gereklilikler tam olarak kesinleşmiş değildir (8, 9).

Biyolojik olmayan kompleks ilaçlar lipozomları, glatiramoitleri, demir karbonhidrat komplekslerini, polimerik miselleri ve nano ilaçları kapsamaktadır (4).

### 1. LİPOZOMLAR

Lipozomlar, amfilik yapıya sahip küçük veziküler ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Yapılarında hidrofilik ve lipofilik bölgeleri içermeleri nedeniyle hem suda, hem de yağda çözünen molekülleri taşıyabilirler. Lipozomların yapısı Şekil 1'de görülmektedir (10). Lipozomlar, yapı ve içerik bakımından hücre zarına benzerlik göstermeleri, toksik olmamaları ve kimyasal içeriklerinin belirlenebilmesi gibi özellikleri sayesinde önemli ve başarılı bir ilaç taşıyıcı sistem olarak pek çok çalışmada kullanılmıştır (11).



Şekil 1. Lipozom yapısı (10)

Lipozomların hücreye alım mekanizmaları adsorbsiyon, endositoz, füzyon ve lipit değişimi şeklindedir (12). Amaca uygun olarak, hedeflendirilebilir, sıcaklık ve pH'a duyarlı, dolaşımda uzun süre kalabilen, anyonik veya katyonik özellikte lipozomlar hazırlanabilmektedir (13).

Bir diğer yandan, belirlenen hücrelere hedeflendirme yapılmasını sağlayan lipozomların geliştirilmesi ile bu veziküler taşıyıcı sistemlerin tıpta kullanımı ivme kazanmıştır. Tıpta teşhis, tedavi ve koruma amaçlı kullanılmaktadırlar (14). Lipozomların belirli bir hedefe yönlendirilebilmesi spesifik molekülleri tanıyabilen ligandların lipozomların uygun bölgelerine bağlanması ile sağlanmaktadır. Lipozomların yüzeyine kovalent olarak bağlanan antikolar, spesifik yüzey antijenlerine güvenli bir şekilde ilaç taşımak üzere hedeflendirilmiştir. In vivo ve in vitro hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda, umut vaadeden sonuçlar elde edilmiştir (15). Lipozomlar, kemoterapötik ajanlar, biyolojik makromoleküller, nükleik asitler ve aşılardan taşınmasında kullanılan veziküler yapıda ilaç taşıyıcı sistemlerden birisidir (16).

Lipozomlar, ilaçların toksisitesini ve yan etkisini azaltır, permeabiliteyi artırır, stabilitesini sağlar ve yarı ömrü kısa ilaçların biyoyararlanımını artırır. Hücre içinde stabilite sorunu olan DNA, RNA, oligonükleotitler gibi nükleik asitleri enzimatik parçalanmadan korurken hücre içi geri alımını iyileştirir ve hapsedilen molekülün farmakokinetiğini değiştirir (17). Sahip olduğu bu özellikler nedeni ile kanser tedavisinde kullanımı son yıllarda artmıştır. Lipozomal formülasyon şeklinde karşımıza çıkan ilk müstahzar örnekleri, FDA tarafından onaylanan Doxil® ve EMA tarafından onaylanan AmBisome®'dir. Kanser hastalığının tedavisinde daha etkili bir tedavi yöntemi oluşturmak için polietilenglikol (PEG) ile kaplanmış lipozomal doksorubisin (PLD), PEG ile kaplanmamış lipozomal doksorubisin (NPLD), lipozomal daunorubisin (DNX), lipozom içine enkapsüle edilmiş platin bileşimleri, immünolipozomlar (antikor aracılı taşıma) gibi farklı lipozom formülasyonları geliştirilmiştir (18).

Lipozomlar, hücre füzyonunu sağlamak, membranların fosfolipit ve kolesterol içeriğini değiştirmek ve suda çözünebilir fakat hücre içine geçişi zor moleküllerin transferini kolaylaştırmak için kullanılabilirler.

Bu veziküler ilaç taşıyıcı sistemler kısaca, hastalığa neden olan kusurlu genin yerine sağlıklı kopyalarının yerleştirilmesiyle genetik yapının düzeltilmesi, olarak tanımlayabildiğimiz gen tedavisi alanında da kullanım yeri bulmuştur. Nükleik asitlerin negatif yüklü olmalarından dolayı katyonik lipozomlar, genleri hedef bölgeye taşımak için en uygun vektörler olarak ön plana çıkmaktadır. DNA lipozomlar sayesinde stabil olarak hücre içine taşınabilmektedir (19).

Intravenöz yolla verilen lipozomların vücuttaki fagositik hücreler tarafından sindirildiğinin fark edilmesi üzerine bu lipozomlar, ilaç moleküllerinin makrofajlara yönlendirilmesinde en uygun ilaç taşıyıcı sistemler halini almıştır.

Öldürücü makrofaj içi parazitik bir hastalık olan Leishmaniasisi tedavi etmek için kullanılan ilaçlar oldukça toksiktir. Bu tip ilaçların lipozomlara enkapsüle edilerek sadece hedef bölgede birikmelerinin sağlanmasıyla toksisitesi azaltılmaktadır. Bu tip formülasyonların kullanımı şu an hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarla sınırlı olsa da son yıllarda antiparazitik lipozom formülasyonlarının kullanıldığı insan üzerinde yapılan çalışmalar da başlatılmıştır. Bu çalışmalarda en çok başarı elde edileni, Amfoterisin B taşıyan lipozom formülasyonlarının insanda antifungal tedavide kullanılması olmuştur (20). Dermatolojik hastalıkların tedavisinde lipozomların kullanımı ayrı bir önem taşımaktadır. Deri sağlığı için gerekli olan yağlar, vitaminler ve iyonlar, lipozomların içerisine enkapsüle edilerek deriye doğrudan uygulanabilmektedir. Dermatoloji alanında lipozom kullanımının sağladığı en büyük avantaj ise uzun süreli ve kontrollü etkin madde salımıdır. Lipozomların taşıdıkları bu maddeler deri hücreleri tarafından kabul edilir özelliktedir. Fakat bunu koruyucu maddeler için söylemek pek mümkün olmamaktadır. Bu maddeler nedeniyle



alerjik reaksiyonların gelişmesi gibi durumlarla karşılaşılmaktadır (21).

Lipozomlar büyüklüklerine, tabaka sayısı ve hazırlama metotlarına göre çeşitli şekillerde sınıflandırılabilirler. Lipozomların tip, boyut ve lipit bütünlüğü bakımından bu şekilde çeşitlilik göstermesi, farklı özelliklerde ilaç yüklenmesi ve taşınmasına olanak sağlamaktadır (22). Lipozomların hazırlanmasında da birçok farklı yöntem kullanılmaktadır. Bunların arasından en çok film hidrasyon diğer bir adıyla Bangham yöntemi kullanılır (23). Lipozom hazırlanmasında ilk olarak lipit film oluşturulur. Ardından hidrasyon işlemi gerçekleştirilir ve homojen bir boyut dağılımı elde etmek için sonikasyon gibi yöntemler kullanılarak istenen özellikte lipozomlar hazırlanır.

Lipozomların fiziksel ve kimyasal özellikleri, hem in vivo hem de in vitro davranışlarını etkilediği için oldukça önem kazanmaktadır. Bu sebeple karakterizasyonunun tam olarak yapılması gerekmektedir (24).

## 2. GLATİRAMOİTLER

Glatiramoitler, kısmi hidrolizin ardından polimerizasyon ile elde edilen çeşitli sekans ve büyüklüklerde L-glutamik asit, L-alanin, L-lisin ve L-tirozin olmak üzere dört amino asit içeren sentetik kopolimer karışımlarından oluşan yapılardır (25). Diğer biyolojik olmayan kompleks ilaçlarda olduğu gibi glatiramoitlerin karmaşıklığı ve heterojenliği nedeniyle karışım içindeki klinik olarak aktif epitoplara tanımlanması oldukça güçtür (26).

İlk incelenen glatiramoit, 1 mL enjeksiyonluk çözeltisi, kullanıma hazır dolu enjektör başına 40 mg glatiramer asetat (GA) içeren Copaxone®, ataklarla seyreden multiple sklerozun (MS) tedavisi için onaylanmış, immünomodülatör aktivitesi olan polipeptitlerin kompleks heterojen bir karışımıdır. Glatiramer asetatın MS hastalarında nasıl etki gösterdiği tam olarak açıklanamamış olsa da MS'in patogenezinin sorumlu olan immün prosesleri değiştirerek etki ettiği düşünülmektedir (27). Bu doğrultuda MS'li hastalarda ve hayvanlarda yapılan

çalışmalar; glatiramer asetatın, periferde glatiramer asetata özel supresör T hücrelerini etkileyip aktif duruma geçirdiğini öne sürmektedir. Bir başka glatiramoit, protiramer, yakın zamanda prelinik çalışmalarda ve ataklarla seyreden MS hastaları ile yapılan iki küçük Faz II klinik çalışmasında değerlendirilmiştir. Glatiramoitler arasında moleküler kitlelerin dağılımında veya antijenik polipeptit sekanslarının bileşimindeki küçük farklılıklar bile etkinlik, toksisite ve immünojenisite profillerini önemli ölçüde etkileyebilir (28).

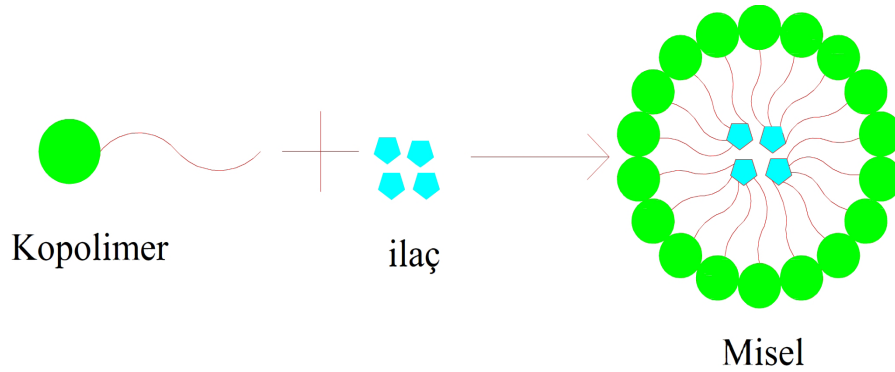
## 3. DEMİR KARBONHİDRAT KOMPLEKSLERİ

Bu grup ilaçlar, bilinmeyen bir yapıya sahip karbonhidrat kaplı polinükleer demir (III)-oksohidroksit çekirdeklerinden oluşan nano boyutta dispersiyon sistemlerdir. Zahmetli ve sıkı kontrollü üretim süreçlerinin sonucunda meydana gelmiş yapılardır (29). Demir karbonhidrat kompleksleri, polinükleer oksi hidroksi merkezini stabilize eden ve ürünün kinetik ve (doz) toleransını etkileyen sükroz, glukonat, dekstran, karboksimaltoz, izomaltosid veya poliglukosorbitol gibi farklı mono veya polimerik şekerlerden oluşur (30).

Vücutta demir taşınması / depolanması, transferrin ve ferritin gibi farklı spesifik proteinlerle sağlanır. Serbest demir mononükleer fagositik sistem / retikulo-endotel sistem (MPS / RES) rezervuarlarına taşınır, dağıtılır ve depolanır. Bu dağıtım şekli, spesifik üretim prosesine bağımlı nanopartiküler özellikleriyle bağlantılıdır (31). Avrupa İlaç Ajansı (EMA), demir bazlı nano-kolloidal ürünlerin ruhsatlandırılması aşamasında ek güvenlik verisine ihtiyaç olduğunu açıklamıştır (32).

## 4. POLİMERİK MİSELLER

Polimerik miseller, biyolojik olmayan kompleks ilaç grubunda yer alan diğer nano ilaçlardır. Yüzeysel aktif maddelerin baş gruplarının su içinde çözünmesi ve hidrokarbon kısımlarının su tarafından itilerek bir arada kümeleşmesi sonucu ortaya çıkan yapılara misel adı verilmektedir (Şekil 2) (33).



Şekil 2. Misel yapısı (33)

Polimerik miseller, hidrofobik ve amfifilik etkin maddelerin salımı için uygun amfifilik blok kopolimerlerden hazırlanan nano boyutlu sistemlerdir (34). Kopolimerlerin tiplerine bağlı olarak, hidrofilik-hidrofobik blok kombinasyonları gibi farklı tipte miseller oluşabilmektedir (35). Blok kopolimerlerin su içindeki çözünürlüğüne göre doğrudan çözme ve diyaliz yöntemi olmak üzere başlıca iki temel hazırlama yöntemi bulunmaktadır (36).

Polimerik misellerin tercih edilme sebepleri arasında;

- İlaçların suda çözünürlüğünü, dolayısıyla ilaçların biyoyararlanımını arttırmaları,
- Gerekli bölgede etkin maddenin birikmesini sağlamak için hidrofilik bir blok varlığında kanda uzun süre kalabilmeleri ve ilaç konsantrasyonunu arttırabilmeleri,
- İlacın istenmeyen yan etkilerini ya da toksisitesini azaltmaları veya yok etmeleri,
- Spesifik bir ligant bağlanması ile hedeflendirilebilmeleri gösterilebilmektedir.

Polimerik misellerin karakterizasyonunun yapılması için kritik misel konsantrasyonunun, stabilitelerinin ve misellerin vezikül boyutu dağılımlarının tayin edilmesi gereklidir.

Hedef bölgede misellerin birikmesi, etkin madde salımı için yeterli zamanın sağlanması ve aynı zamanda vücuttan kolayca elimine edilebilmeleri için

yavaş bir şekilde birimlerine ayrışmaları gerekir.

İdeal bir misel sisteminin taşıması gereken özellikler şu şekildedir:

- Bir bütün olarak miselin boyutu 100 nm'den küçük olmalıdır ve bu sayede hücre ve dokulara girişi mümkün olur.
- Etkin maddenin farmakokinetik parametreleri ve biyodağılımında tahmin edilemeyen değişiklikleri önlemek için dar bir çap dağılımına sahip olmalıdır.
- İn vivo verilişte dayanıklı olmalıdır, kritik misel konsantrasyonu düşük olmalıdır ve misel yapısı yavaşça bozulmalıdır.
- Miselin koronası çekirdeği yeterli derecede kaplarken etkin bir sterik engel olarak da rol oynamalıdır.
- Miselin çekirdeği yüksek bir yükleme kapasitesine sahip olmalı ve kontrollü bir etkin madde salımı sağlamalıdır.

Polimerik miseller tanı amaçlı görüntüleme, ilaç hedeflendirme ve oral ilaç taşınması amacıyla kullanılır. Küçük çap, yüksek çözünürlük, basit sterilizasyon, kontrollü etkin madde salımı gibi belirgin avantajları nedeniyle polimerik misellerin ideal ilaç taşıyıcı sistemler olduğu görülmektedir. Çalışmalar özellikle antikanser etkin maddelerin misel formülasyonları ile paranteral olarak verilmesi üzerinde yoğunlaşmıştır.

## SONUÇ

Biyolojik olmayan kompleks ilaçlar daha çok araştırılması ve incelenmesi gereken bir ilaç grubudur. Biyolojik kaynaklı olmayan karmaşık ilaç yapılarının, potansiyel immünojenitesi ve tam karakterizasyonunun fizikokimyasal yöntemlerle yapılamaması çözüm bekleyen sorunlarının başında gelmektedir (37, 38). Seri üretime geçildiğinde elde edilen ürünlerin aynıysa yerine sadece benzer şekilde üretilebilmesi diğer sorunlardan birisidir.

Biyolojik olmayan kompleks ilaçlarla ilgili yasal düzenlemelerde EMA ve FDA arasında farklılıklar bulunmaktadır. Bu ürünlerin ve benzerlerinin üretim sürecinde küçük değişiklikler bile etkinlik veya güvenlikte klinik olarak anlamlı farklılıklar ile sonuçlanabilmektedir. Bu nedenle bu ürünlerin etkili ve güvenli bir şekilde kullanılabilmesi için, kalite, güvenilirlik ve etkinlik açısından global harmonizasyon ile gereklilikler ortaya konmalı, onay sürecinde ve sonrasında izlenmesi gereken kılavuzlar yayımlanmalıdır (39).

## KAYNAKLAR

- Flühmann B, Walson PD, Mühlebach S. Non-biological complex drugs (NBCDs). *GaBI Journal*, 2014; 3(1): 30-3.
- Weinstein V. Looking at the recent FDA biosimilar guidelines immunogenicity concerns and extension to other classes of drugs. *Bioprocess Int*, 2012; 10(6): 10-14.
- Demir-Dora D. Biyofarmasötik ürünlerin geliştirilmesinde biyobelirteçler. *Türkiye Klinikleri J Pharmacol-Special Topics*, 2017; 5(2): 75-83.
- Schellekens H, Stegemann S, Weinstein V, Vlioger J, Flühmann B, Mühlebach S, et al. How to regulate nonbiological complex drugs (NBCD) and their follow-on versions: points to consider. *The AAPS J*, 2014; 16(1): 15-21.
- Crommelin D, Vlioger J, Weinstein V, Mühlebach S, Shah V, Schellekens H. Different pharmaceutical products need similar terminology. *The AAPS J*, 2013; 16 (1): 11-14.
- Özdem S, Çiçin İ, Demir-Dora D, Korucu-Nazlı C. Sorularla Biyoteknolojik ve Biyobenzer İlaçlar. 1. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri, 2017.
- Nicholas JM. Complex drugs and biologics: scientific and regulatory challenges for follow-on products. *Drug Inf J*, 2012; 46(2): 197-206.
- Flühmann B, Vlioger JSB, Vulto AG, Mühlebach S, Weinstein V, Shah VP. The authorization of non-biological complex drugs (NBCDs) follow-on versions: specific regulatory and interchangeability rules ahead. *GaBI Journal*, 2013; 2(4): 204-7.
- Hussaarts L, Mühlebach S, Shah VP, McNeil S, Borchard G, Fluhmann B, et al. Equivalence of complex drug products: advances in and challenges for current regulatory frameworks. *Ann NY Acad Sci*, 2017; 1407 (1): 39-49.
- Nguyen TX, Huang L, Gauthier M, Yang G, Wang Q. Recent advances in liposome surface modification for oral drug delivery. *Nanomedicine (Lond.)*, 2016; 11(9): 1169-1185.
- Seema R, Chanchal C, Ravi S, Ankur R, Dinesh K, Satish S, et al. Liposomes: preparations and applications. *Int J Drug Dev & Res*, 2012; 4 (4): 108-115.
- Akbarzadeh A, Rezaei-Sadabady R, Davaran S, Joo SW, Zarghami N, Hanifehpour Y, et al. Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Res Lett*, 2013; 8(1): 102.
- Bangale GS, Rajesh KS, Shinde GV. Stealth liposomes: a novel approach of targeted drug delivery in cancer therapy. *IJPSR*, 2014; 5 (11): 750-759.
- Fathi S, Oyelere KA. Liposomal drug delivery systems for targeted cancer therapy: is active targeting the best choice. *Future Med Chem*, 2016; 8 (17): 2091- 2112.
- Xing H, Tang L, Yang X, Hwang K, Wang W, Yin Q, et al. Selective delivery of an anticancer drug with aptamer-functionalized liposomes to breast cancer cells in vitro and in vivo. *J Mater Chem B*, 2013; 1 (39): 5288-5297.
- Okazaki S, Iwasaki T, Yuba E, Watarai S. Evaluation of pH-sensitive fusogenic polymer-modified liposomes co-loaded with antigen and  $\alpha$ -galactosylceramide as an anti-tumor vaccine. *J Vet Med Sci*, 2018; 80(2): 197-204.

17. Thomas J, Ohtsuka M, Pichler M, Ling H. MicroRNAs: Clinical relevance in colorectal cancer. *Int J Mol Sci*, 2015; 16(12): 28063-28076.
18. Hofheinz RD, Gnad-Vogt SU, Beyer U, Hochhaus A. Liposomal encapsulated anti-cancer drugs. *Anticancer Drug*, 2005; 16(7): 691-707.
19. Immordino ML, Dosio F, Cattel L. Stealth liposomes: review of the basic science, rationale, and clinical applications, existing and potential. *Int J Nanomedicine*, 2006; 1(3): 297-315.
20. Perez AP, Altubea MJ, Schilrreff P, Apezteguia G, Celes FS, Zacchino S, et al. Topical amphotericin B in ultradeformable liposomes: Formulation, skin penetration study, antifungal and antileishmanial activity in vitro. *Colloids Surf. B*, 2016; (139): 190-198.
21. Eroğlu İ, Azizoğlu E, Özyazıcı M, Nenni M, Orhan H, Özbal S. Effective topical delivery systems for corticosteroids: dermatological and histological evaluations. *Drug Deliv*, 2016; 23(5): 1502-1513.
22. Shashi K, Satinder K, Bharat P. A complete review on: Liposomes. *IRJP*, 2012; 3(7): 10-16.
23. Hu CJ, Zhang L. Nanoparticle-based combination therapy toward. *Biochem Pharmacol*, 2012; 83(8): 1104-11.
24. Lia T, Cipolla D, Rades T, Boyd BJ. Drug nanocrystallisation within liposomes. *J Control Release*, 2018; 288: 96-110.
25. Varkony H, Weinstein V, Klinger E, Sterling J, Cooperman H, Komlosh T, et al. The glatirameroid class of immunomodulator drugs. *Expert Opin Pharmacother*, 2009; 10(4): 657-68.
26. Bakshi S, Chalifa-Caspi V, Plaschkes I, Perevozkin I, Gurevich M, Schwartz R. Gene expression analysis reveals functional pathways of glatiramer acetate activation. *Expert Opin Ther Targets*, 2013; 17(4): 351-62.
27. Conner J. Glatiramer acetate and therapeutic peptide vaccines for multiple sclerosis. *Journal of Autoimmunity and Cell Responses*, 2014; 1(3): 1-11. *J Autoimmun Cell Responses*.
28. Varkony H, Weinstein V, Klinger E, Sterling J, Cooperman H, Komlosh T, et al. The glatirameroid class of immunomodulator drugs. *Expert Opin Pharmacother*, 2009; 10(4): 657-68.
29. Crommelin DJ, Shah VP, Klebovich I, McNeil SE, Weinstein V, Flühmann B, et al. The similarity question for biologicals and non-biological complex drugs. *Eur J Pharm Sci*, 2015; 30(76): 10-7.
30. Ehmann F, Saka-Kato K, Duncan R, Hernan Perez de la Ossa D, Pita R, Vidal J-M, et al. Next generation nanomedicines and nanosimilars: EU regulators' initiatives relating to the development and evaluation of nanomedicines. *Nanomedicine (Lond)*, 2013; 8(5): 849-56.
31. <https://www.fbo.gov/index.php?s=opportunity&mode=form&id=592788989854da145c8e7b6d103c898d&tab=core&tabmode=list&=> Erişim tarihi: 13.09.18).
32. <http://www.gabionline.net/Non-Biological-Complex-Drugs/Guidelines/EMA-issues-reflection-paper-for-follow-on-versions-of-iron-based-nano-colloidal-products> Erişim tarihi: 13.09.18).
33. Deshmukh AS, Chauhan PN, Noolvi MN, Chaturvedi K, Ganguly K, Shukla SS, et al. Polymeric micelles: Basic research to clinical practice. *Int J Pharm*, 2017; 532(1): 249-268.
34. Zhang Y, Huang Y, Song L. Polymeric micelles: nanocarriers for cancer-targeted drug delivery. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2014; 15(4): 862-871.
35. Torchilin VP. Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems. *J Contr Rel*, 2001; 73(2-3): 137-72.
36. Qu X, Khutoryanskiy V, Stewart A, Rahman S, Papahadjopoulos-Sternberg B, Dufes C, et al. Carbohydrate-based micelle clusters which enhance hydrophobic drug bioavailability by up to 1 order of magnitude. *Biomacromolecules*, 2006; 7(12): 3452-3459.
37. Duncan R, Gaspar R. Nanomedicine(s) under the microscope. *Mol Pharmaceutics*, 2011; 8(6): 2101-41.
38. Borchard G, Flühmann B, Mühlebach S. Nanoparticle iron medicinal products - requirements for approval of intended copies of non-biological complex drugs (NBCD) and the importance of clinical comparative studies. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2012; 64(2): 324-8.
39. Mühlebach S, Vulto AG, de Vlieger Jon SB, Weinstein V, Flühmann B, et al. The authorization of non-biological complex drugs (NBCD) follow-on versions: specific regulatory and interchangeability rules ahead. *GaBI Journal*, 2013; 2(4): 204-7.

## 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

