

ISSN 0377-9777
e - ISSN 1308-2523



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
REFİK SAYDAM HIFZISSİHHA MERKEZİ BAŞKANLIĞI

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 67 ■ Sayı/Number 1 ■ Yıl/Year 2010

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY



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

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

ISSN 0377-9777
e-ISSN 1308-2523

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

■ Cilt/Vol 67 ■ Sayı/Number 1 ■ Yıl/Year 2010

**TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND
EXPERIMENTAL BIOLOGY**

Türk Hij Den Biyol Derg

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Sahibi / Owner

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

Başkan Doç. Dr. Mustafa ERTEK

Assoc. Prof. Dr. Mustafa ERTEK, President

EDİTÖR / EDITOR IN CHIEF

Ayşegül TAYLAN-ÖZKAN

EDİTÖR YARDIMCILARI / DEPUTY EDITORS

Demet CANSARAN-DUMAN

Yavuz UYAR

YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Sühendan ADIGÜZEL

Canan BAYAR

Fatih BAKIR

Arsun ESMER

Sibel KARACA

Nesrin KARACA

Selçuk KILIÇ

Ayşe PEKER-ÖZKAN

Özcan ÖZKAN

Saime ŞAHİNÖZ

Pınar ÜNAL

Gerard A. van ZOELLEN

TEKNİK YÖNETMEN / TECHNICAL MANAGER

Nevzat IŞIK

TEKNİK KURUL / TECHNICAL BOARD

Murat BAYRAM

Murat DUMAN

Hasan KAYA

Zeynep KÖSEOĞLU

Selahattin TAŞOĞLU

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

Yılda dört kez yayınlanır / Published four times per year

Asitsiz kağıt kullanılmıştır / Acid free paper is used

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

Baskı ve Cilt / Press and Binding :
Kayihan Ajans
Hoşdere Cad. No: 201/9 Çankaya-ANKARA
Tel: 0312 442 72 72
e-posta: kayihanajans@gmail.com

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

Basım Tarihi / Date of Publication :
Mayıs 2010 / May 2010

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

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

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

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

Ali ALBAY, GATA, Ankara

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Berrin ESEN, RSHMB, Ankara

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

Celal GÖKÇAY, ODTÜ, Çevre Müh., Ankara

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

Daniel MOTLHANKA, Botswana College of Agriculture, Botswana

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gülnur TARHAN, Ahievran Üniv., Sağlık MYO, Kırıkkale

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

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

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

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

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

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

İsmail CEYHAN, RSHMB, Ankara

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

Kosta Y. MUMCUOĞLU, Hebrew Univ., Israel

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

Mahinur AKKAYA, ODTÜ, Kimya Müh., Ankara

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

TÜRK HİJYEN ve DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

TURKISH BULLETIN OF HYGIENE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

BİLİMSEL DANIŞMA KURULU / SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Nilay ÇÖPLÜ, RSHMB, Ankara

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

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

Orhan BAYLAN, GATA, Ankara

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

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

Paul HEYMAN, Queen Astrid Military Hospital, Belgium

Pauline MWINZI, Medical Research Inst., Kenya

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

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

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

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

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

Roberto Canete VILLAFRANCE, Centre for Hygiene, Cuba

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

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

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

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

Sıraç DİLBER, Karolinska Univ., Medical School, Sweden

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

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

Takashi AKAMATSU, Prof. Emeritus, Japan

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

Yesim ÖZBAŞ, Hacettepe Üniv. Gıda Müh., Ankara

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

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

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

TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ YAZIM KURALLARI

Dergide yayınlanmak üzere gönderilen makaleler, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi yazım kurallarına göre hazırlanmalıdır. Başvurular www.turkhijyen.org adresinden “Çevrimiçi Makale Gönder, Takip Et, Değerlendir Programı” aracılığıyla online olarak yapılabilir.

Gönderilen yazılarda aşağıdaki kurallar aranır:

1- “Telif hakkı devir formu” (Copyright Release Form) tüm yazarlarca imzalanarak onaylandıktan sonra Dergimize iletilmelidir. Bu forma www.turkhijyen.org adresinden ulaşılabilir.

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

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

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

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

5- Metin içerisinde bahsedilen birimlerin sembolleri “*The Système International*” (SI)’e göre verilmelidir.

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

7- A4 kağıtların yalnız bir yüzü kullanılmalı, her bir kenarlarından 2,5'ar cm boşluk bırakılmalıdır. 12 punto, “Times New Roman” yazı karakteri ve iki satır aralığı (double space) kullanılmalıdır.

8- Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, yazarlardan araştırma ve yayın etiğine uyumlu olunmasını istemektedir. İnsan araştırmalarında, çalışmaya katılanlardan bilgilendirilimiş olurun (yazılı veya sözlü) alındığını gereç ve yöntem bölümünde belirtilmesi gerekmektedir. Gönüllü ya da hastalara uygulanacak prosedürlerin özelliği tümüyle anlatıldıktan sonra, kendilerinin bilgilendirilip onaylarını alındığını gösterir bir cümle bulunmalıdır. Yerel etik kurullarına sahip olmayan yazarlar, Helsinki Bildirgesinde (www.wma.net/et/policy/pdf/17c.pdf) ana hatlarını çizilen ilkeleri izlemelidirler. Yazarlar, bu tür bir çalışma söz konusu olduğunda, uluslararası alanda kabul edilen kılavuzlara ve “İlaç Araştırmaları Hakkında Yönetmelik” ve daha sonra yayınlanan diğer yönetmelik ve yazılarda belirtilen hükümlere uyulduğunu belirtmeli ve kurumdan aldıkları “Etik Kurul Onayı”nı göndermelidirler.

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

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

11- Makale yazımında dikkat edilecek hususlar şunlardır:

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

Türkçe Özet: Amaç, Yöntem, Bulgular ve Tartışma alt başlıklarından oluşmalıdır (yapılandırılmış özet) ve en az 300, en fazla 500 sözcük içermelidir.

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

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

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

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

Bulgular: Sadece elde edilen bulgular açık bir şekilde belirtilmelidir.

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

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

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

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

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

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

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

Kitap: Yazar(lar)ın soyadı adının baş harf(ler)i. Kitabın adı. Kaçıncı 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. Kaçıncı 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, Mascaro C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October,10-14, Izmir-Turkey. 1994.

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

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

Şekil ve Tablolar: Her tablo veya şekil ayrı bir sayfaya basılmalı, alt ve üst çizgiler ve gerektiğinde ara sütun çizgileri içermelidir. Tablolar, “Tablo 1.” şeklinde numaralandırılmalı ve tablo başlığı tablo üst çizgisinin üstüne yazılmalıdır. Açıklayıcı bilgiye başlıkta değil 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.

b) **Derleme türü yazılarda;** terchen 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 ve anahtar sözcükler bulunmalıdır.

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

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

12- Bu kurallara uygun olmayan metinler kabul edilmez.

13- Yazarlar teslim ettikleri yazının bir kopyasını saklamalıdır.

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

Tel : (0312) 458 23 64 Faks : (0312) 458 24 08 e-posta : turkhijyen@rshm.gov.tr

TÜRK HİJYEN VE DENEYSEL BİYOLOJİ DERGİSİ

YAYIN İLKELERİ

- Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı yayın organıdır. Dergi üç (3) ayda bir çıkar ve dört (4) sayıda bir cilt tamamlanır.
- Dergide mikrobiyoloji, immünoloji, farmakoloji, toksikoloji, parazitoloji, entomoloji, biyokimya, gıda güvenliği, çevre sağlığı, halk sağlığı, epidemiyoloji, patoloji, fizyopatoloji, moleküler biyoloji ve genetik ile ilgili alanlardaki özgün araştırma, olgu sunumu, derleme, editöre mektup türündeki makaleler Türkçe ve İngilizce olarak yayımlanır.
- Dergide, daha önce başka yerde yayınlanmamış ve yayınlanmak üzere başka bir dergide inceleme aşamasında olmayan makaleler yayımlanır.
- Dergi Yayın Kurulu ve Bilimsel Danışma Kurulu tarafından uygun görülen yazılar, konu ile ilgili en az iki Bilimsel Danışma Kurulu Üyesinden olumlu görüşü alındığında yayımlanmaya hak kazanır. Bu kurulların, yazının içeriğini değiştirmeyen her türlü düzeltme ve kısaltmaları yapma yetkileri vardır.
- Yazıların bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazarlarına aittir.
- Yazarlar araştırma ve yayın etiğine tam olarak uyum göstermelidir.
- Dergide yayınlanan yazıların yayın hakkı Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'ne aittir. Yazarlara telif ücreti ödenmez.

YAZAR İÇİN MAKALE KONTROL LİSTESİ

- Bütün yazarlarca isim sırasına göre imzalanmış telif hakkı devir formu eksiksiz olarak dolduruldu.
 - Yazar isimleri açık olarak yazıldı.
 - Her yazarın bağlı bulunduğu kurum adı, yazar adının yanına numara verilerek başlık sayfasında belirtildi.
 - Yazışmalardan sorumlu yazarın adı, adresi, telefon-faks numaraları ve e-posta adresi verildi.
 - Türkçe ve İngilizce başlıklar ile kısa başlık yazıldı.
 - Türkçe ve İngilizce özetlerin kelime sayısı (300-500 arası) kontrol edildi.
 - Türkçe ve İngilizce anahtar kelimeler (MeSH'e uygun) verildi.
 - Tüm kısaltmalar gözden geçirildi ve standart olmayan kısaltmalar 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.

YAZARLARIN DİKKATİNE

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi' nin yeniden yapılanması nedeniyle, 2007 yılından itibaren geçerli olmak üzere bazı değişiklikler yapılmıştır. Bu nedenle yazarlarımızın makale gönderirken "yeni yazım kuralları ve yayın ilkelerine" göre yazılarını hazırlamaları son derece önemlidir. Yazarlarımız için "telif hakkı devir formu" örneği derginin arka sayfasında sunulmuştur. Her türlü soru, öneri ve şikayetleriniz için Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, Dergi Koordinatörlüğü ile irtibata geçebilirsiniz ve bilgi alabilirsiniz.

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi online makale kabulüne başlamıştır.

Ayrıntılı bilgi için :

www.turkhijyen.org

**Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi;
CABI Index, Index Copernicus ve Google Scholar
tarafından dizinlenmektedir.**

İLETİŞİM

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

**Cemal Gürsel Caddesi No: 18
06100 Sıhhiye/ANKARA**

Tel: +90 0312 458 23 64

Faks: +90 0312 458 24 08

e-posta: turkhijyen@rshm.gov.tr

[http: www.rshm.gov.tr](http://www.rshm.gov.tr)

www.turkhijyen.org

İÇİNDEKİLER

■ Araştırma Makalesi

- 1. Sağlık Bakanlığı Eğitim Hastaneleri Bulaşıcı Hastalıkları Daha Yüksek Oranda Bildiriyor** 1-12
Raika DURUSOY, Ali Osman KARABABA
- 2. Epitelyal Olmayan Over Kanselerinde PCNA Ekspresyonu ve Prognoza Etkileri** 13-19
Faruk ABİKE, Sema ZENGEROGLU, İlkkan DÜNDER
- 3. Hidatik Kistte Canlılık Tayininde İdeal Boyanma Kalitesi İçin Kullanılan Eozinin Konsantrasyonu Ne Olmalı ?** 21-26
Özlem MİMAN, Ö. Makbule AYCAN, Cemalettin AYDIN, Metin ATAMBAY
- 4. Trabzon Göğüs Hastalıkları Hastanesi Çalışanlarında HBV, HCV ve HIV Seroprevalansı** 27-32
Yelda YAZICI, Nagihan DEMİR, Halit ÇINARKA, Hülya YILMAZ, Nedime ALTINTAŞ

■ Derleme

- 5. Bitki Islahında Moleküler Belirteçlerin Kullanımı ve Gen Aktarımı** 33-43
Çiğdem VARDAR-KANLITEPE, Sümer ARAS, Demet CANSARAN-DUMAN
- 6. Gateway Klonlama Teknolojisine Genel Bakış: Daha Hızlı, Daha Kolay, Daha Etkin Bir Klonlama Yöntemi** 45-51
Meryem JEFFERIES, Mustafa HACİÖMEROĞLU

■ Düzeltme

- 7. Düzeltme -1: Ulusal Zehir Merkezi 2008 Yılı Çalışma Raporu Özeti** 53-54
- 8. Düzeltme -2: Türkiye’de Bazı Liken Türlerindeki Usnik Asitin HPLC Yöntemi ile Değerlendirilmesi ve Antimikrobiyal Aktiviteleri** 55

CONTENTS

■ Original Article

- 1. Ministry of Health's Education Hospitals are More Likely to Notify Communicable Diseases** 1-12
Raika DURUSOY, Ali Osman KARABABA
- 2. PCNA Expression in Non-Epithelial Ovarian Tumors and Correlation of Prognosis** 13-19
Faruk ABİKE, Sema ZENGEROGLU, İlkan DÜNDER
- 3. What Should Be The Concentration of Eosin to Qualification of Ideal Staining for Viability Determination on Hydatid Cyst ?** 21-26
Özlem MİMAN, Ö. Makbule AYCAN, Cemalettin AYDIN, Metin ATAMBAY
- 4. Seroprevalances of HBV, HCV and HIV Among Healthcare Workers of Trabzon Chest Diseases Hospital** 27-32
Yelda YAZICI, Nagihan DEMİR, Halit ÇINARKA, Hülya YILMAZ, Nedime ALTINTAŞ

■ Review

- 5. Application of the Molecular Marker and Gene Transfer in Plant Breeding** 33-43
Çigdem VARDAR-KANLITEPE, Sümer ARAS, Demet CANSARAN-DUMAN
- 6. General View on Gateway Cloning Technology: Faster, Easier, More Accurate Cloning Method** 45-51
Meryem JEFFERIES, Mustafa HACİÖMEROĞLU

■ Erratum

- 7. Erratum -1: Annual Report, 2008 National Poison Information Center** 53-54
- 8. Erratum -2: Evaluation of Usnic Acid in Some Lichens of Turkey By HPLC Analysis and Screening of Their Antimicrobial Activity** 55

SAĞLIK BAKANLIĞI EĞİTİM HASTANELERİ BULAŞICI HASTALIKLARI DAHA YÜKSEK ORANDA BİLDİRİYOR*

Ministry of Health's Education Hospitals are More Likely to Notify Communicable Diseases

Raika DURUSOY¹, Ali Osman KARABABA¹

¹ Ege Üniversitesi,
Tıp Fakültesi Halk Sağlığı A.D.,
İZMİR

Geliş Tarihi: 11.12.2009
Kabul Tarihi: 12.05.2010

İletişim:
Raika DURUSOY
Ege Üniversitesi,
Tıp Fakültesi Halk Sağlığı A.D.
35100 Bornova, İZMİR
Tel : +90 232 390 20 77
E-posta : raika.durusoy@ege.edu.tr

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, İzmir ilindeki kurumlarda laboratuvar verilerinin bulaşıcı hastalık bildirimlerine katkısını değerlendiren bir çalışmanın verileri kullanılarak sağlık hizmeti veren değişik kurumlar arasında bulaşıcı hastalık bildirim oranları açısından fark olup olmadığı araştırılmıştır.

Yöntem: Serolojik olarak tanı olanağı bulunan, bildirim zorunlu hastalıklar olan hepatit A, B, C, bruselloz, sifiliz, kızamık ve HIV/AIDS seçilmiştir. İzmir ilinde serolojik test uygulayan tüm sağlık kurumları ziyaret edilmiş ve çalışmaya katılmayı kabul edenlerden ilgili hastalıklara dair pozitif olan sonuçlarla ilgili 2003 verileri toplanmıştır. Aynı olguya ait mükerrer kayıtlar birleştirilmiştir. Laboratuvarlarda saptanan olgular, 2003 yılında İzmir Sağlık Müdürlüğüne yapılan bildirimlerle eşleştirilmiştir. Olguların saptandıkları kurum türüne göre bildirim oranları karşılaştırılmıştır. Sonuçların istatistiksel analizinde Ki-kare testi kullanılmıştır.

Bulgular: İzmir'de serolojik test uygulayan tüm kurumların % 84,2'si (n=133) çalışmaya katılmayı kabul etmiştir. Laboratuvarlarda saptanan 2563 olgunun bildirim oranları kurum türüne göre hastalık bazında karşılaştırılmıştır. Kamuya ait sağlık kurumlarında saptanan hepatit A (% 34,3) ve C (% 3,5) olgularının bildirilme oranı, özelde saptanan olgulardan (% 9,8 ve % 0,6) daha yüksek bulunmuştur (p<0,05). Hastanelerde saptanan hepatit A olgularının bildirilme oranı (% 34,3), laboratuvarlarda saptananlardan daha yüksektir (% 9,8, p<0,05). Hepatit C'de ise kan merkezinde saptanan olguların bildirilme oranı, hastane ve laboratuvarlardan daha yüksektir (sırasıyla % 26,7; % 0,8, % 1,2, p<0,05). Metropolde yer alan kurumlarda ve kamu üçüncü basamak hastanelerinde saptanan olguların bildirilme oranı diğerlerine göre daha yüksek bulunmuştur (p<0,05). Sağlık Bakanlığı hastanelerinde saptanan olguların bildirim oranı, bruselloz hariç SSK hastanelerinden daha yüksektir (p<0,05).

Sonuç: Laboratuvarda saptanan olguların bildirilme oranı, kurumun türüne göre değişmektedir. Kentte yer alan kurumlarda ve Sağlık Bakanlığına bağlı eğitim hastanelerinde bildirim oranları daha yüksektir. Bu farklılıkların bilinmesi, bildirim oranını arttırıcı çalışmalarda yol gösterici olacaktır.

Anahtar Sözcükler: Bildirim, sağlık kurumları, bulaşıcı hastalıklar, surveyans

* Bu çalışma, SBAG-2589 no.lu proje ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

ABSTRACT

Objective: In this study, it was determined if there was a difference between the notification rates of different types of health facilities in İzmir city, using the data of a previous study which evaluated the contribution of laboratory data into communicable disease surveillance.

Method: Serologically detectable and notifiable diseases; hepatitis A, B, C, brucellosis, syphilis, measles and HIV/AIDS were included. All the health facilities applying serologic diagnostic procedures were visited and data on the positive results they found throughout the year 2003 were collected from participating facilities. Duplicate records of the same cases were merged. Cases found in laboratories were matched with the cases notified to İzmir Provincial Health Directorate in 2003. Notification rates of cases found in different types of health facilities were compared. Chi-square test was used for statistical analysis of the results.

Results: Among facilities applying serological tests in İzmir, 84.2% (n=133) accepted to participate in the study. Notification rates of 2563 cases diagnosed in laboratories were compared separately according to their facilities for each disease. Notification rates of hepatitis A (% 34,3) and C (% 3,5) cases found in public institutions were higher than in private facilities (9.8% and 0.6%, respectively, $p<0.05$). Notification rates of hepatitis A cases in hospitals (34.3%) was higher than the cases found in laboratories (9.8%, $p<0.05$), while for hepatitis C it was higher in blood centers compared to hospitals and laboratories (26.7%, 0.8%, and 1.2%, respectively, $p<0.05$). Notification rates were found higher for the cases diagnosed in public tertiary care hospitals and facilities in urban area than the others facilities ($p<0.05$). Notification rates of the cases diagnosed in Ministry of Health hospitals are higher than in Ministry of Labour hospitals ($p<0.05$), except for brucellosis.

Conclusion: Notification rates of cases found in laboratories show variation among types of health facilities. Notification rates of facilities in urban areas and Ministry of Health tertiary care hospitals are significantly higher than the others. Knowing these differences might aid in formulating interventions to increase notification rates.

Key Words: Notification, health facilities, communicable diseases, surveillance

GİRİŞ

Bulaşıcı hastalıklar hakkında bilgi, bütün ülkelerde halk sağlığı konusunda verilecek kararlar için temel öğedir (1). Sürveyans; enfeksiyonların kontrolü amacıyla verilerin sürekli ve sistemli bir biçimde toplanması, listelenmesi, analizi, yorumlanması ve bilgi için dağıtılmasıdır (2). İşlevsel bir ulusal bulaşıcı hastalık sürveyans sistemi, toplumun sağlığı konusunda alınacak kararlarda yol göstericidir. Bulaşıcı hastalık sürveyansı, öncelik belirleme, planlama, kaynak aktarımı, salgınları öngörme, erken saptama, hastalık önleme ve kontrol programlarının izlemi ve değerlendirilmesinde belirleyici role sahiptir (1). Sürveyans verilerinin uzun dönemdeki eğilimlerini izlemek, uluslararası karşılaştırmalar yapmak ve

önleme programlarının maliyet ve yararlarını analiz etmek gibi farklı amaçlarla giderek artan kullanımı, verilerin kalitesi ve epidemiyolojik analizlerin kesinliğiyle ilgili yeni talepler getirmektedir (3).

Ülkemizin bulaşıcı hastalık bildirim sisteminde olduğu gibi pasif sürveyans sistemleri, sağlık hizmeti sunanların gönüllü olarak olguları bildirmesine dayanır ve genelde gerçek olgu sayısının altında sonuçlar verir. Bildirimler ayrıca zaman içinde ve farklı coğrafi birimlerde değişkenlik gösterebilir. Bu nedenle, hastalık hızlarındaki gerçek değişiklikleri bildirim sisteminin artefaktlarından ayırt etmek güç olabilir (4).

ABD’de bulaşıcı hastalık olgularının bildirilme oranlarının % 9-99 arasında değiştiği saptanmıştır. Bu oranı etkileyen en önemli değişkenin hastalığın kendisi olduğu belirlenmiştir. Tüberküloz, AIDS ve cinsel yolla bulaşan hastalıkların bildirilme oranları, tüm diğer bildirimi zorunlu hastalıklardan anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır. Diğer gelişmiş ülkelerde de benzer örüntüler görülmektedir (5).

Ülkemizde bulaşıcı hastalık bildirimlerinin yetersiz olduğu dile getirilmekle beraber (6-8) bu konuda iki hastane ve bir verem savaş dispanseri temelli araştırma dışında sayısal sonuç veren ve nerelerde bildirim daha yetersiz olduğunu ortaya koyan bir araştırmaya rastlanmamıştır (9-11). Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesinde 1997 ve 1998 yıllarında tespit edilen sırasıyla 660 ve 493 adet bildirim zorunlu bulaşıcı hastalık olgusunun 1997 yılında % 13’ünün, 1998 yılında da % 30’unun bildirildiği belirlenmiştir (9). İzmir’de bir çocuk hastalıkları hastanesinin 1999 yılı hepatit A olgularıyla ilgili bir çalışmada hastanenin seroloji laboratuvarında saptanan olguların % 36,2’sinin İl Sağlık Müdürlüğüne bildirilmiş olduğunun saptanması ve bildirimler arasında hepatit A olarak sınıflanan bazı olguların gerçekte hepatit B veya C olduğunun görülmesi, İzmir ili genelinde laboratuvarların bildirimlere katkısını ortaya koyma fikrini doğurmuştur (10).

Bu çalışmanın amacı, İzmir ilindeki laboratuvar verilerinin bulaşıcı hastalık bildirimlerine katkısını değerlendiren bir çalışmanın verilerini kullanarak sağlık hizmeti veren değişik kurumlar arasında bulaşıcı hastalık bildirim oranları açısından fark olup olmadığını ortaya koymaktır. Bu bilgi, bildirim sistemini geliştirmek için yapılabilecek müdahaleler için yol gösterici olabilecektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, kesitsel tipte bir araştırma olup 2003 yılında yürürlükte olan bulaşıcı hastalık bildirim

sistemine göre bildirim zorunlu 39 bulaşıcı hastalık (12) içinden Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)’nün önerdiği sürveyans standartlarına göre serolojik tanı olanağı bulunan hastalıklar çalışmaya dahil edilmiştir (13,14). Laboratuvarlara yapılan ilk ziyaretlerde İzmir’de kuduz ve şarbon hastalıklarıyla ilgili serolojik test uygulayan laboratuvar bulunmadığının belirlenmesi üzerine bu iki hastalık çalışma kapsamı dışında bırakılmıştır. Çalışmanın kapsadığı yedi hastalık ve herbiri için laboratuvarlardan verisi toplanan DSÖ sürveyans kriterleri aşağıdaki gibidir:

- Hepatit A (anti-HAV IgM pozitifliği)
- Hepatit B (anti-HBc IgM pozitifliği, HbsAg pozitifliği)
- Hepatit C (anti-HCV pozitifliği, HCV-RNA, doğrulama testi pozitifliği)
- Bruselloz (serumda Brusella aglütinasyon titresi >160 veya ELISA, 2-ME)
- Sifiliz (TPHA ya da FTA ile doğrulanmış VDRL veya RPR pozitifliği)
- Kızamık (spesifik IgM antikolar)
- HIV enfeksiyonu (doğrulama testi pozitifliği, HIV-RNA)

İzmir ilinde serolojik tanı hizmeti sunan tüm kamu ve özel sağlık kuruluşları çalışmanın evrenini oluşturmaktadır. İlin tamamının seçilmesinin nedeni, bir ilçede oturan bir olguya başka bir ilçede tanı konma olasılığının yüksek olması ve bir ile ait olan bildirimlerin ilin sağlık müdürlüğünde toplanması, böylece bütünlüklü bir karşılaştırmaya olanak tanınmasıdır. Araştırmada evrenin tamamına ulaşılması hedeflenmiş, örneklem kullanılmamıştır.

Kurumlara ulaşmak amacıyla ilde laboratuvar hizmeti veren kamu sağlık kuruluşlarının listesi İl Sağlık Müdürlüğü Bulaşıcı Hastalıklar Şubesinden, biyokimya, mikrobiyoloji ve patoloji laboratuvar dallarında hizmet veren özel sağlık kuruluşlarının

adres ve telefonları da tıp meslekleri şubesinde edinilmiştir. Bu kurumların hepsi (n=190) ziyaret edilerek serolojik test uygulayıp uygulamadıkları öğrenilmiş, uygulamayanlar (n=21) ve kapanmış olanlar (n=11) çalışmanın kapsamı dışında kalmıştır. İncelenen hastalıklarla ilgili DSÖ standartlarında belirtilen serolojik parametrelerin en az birinin herhangi bir yöntemle bakılabildiği ya da bakılmasa bile kan alınıp bakılmaya dışarı gönderildiği kurumlar (n=158) çalışma kapsamını oluşturmuştur. Bu kurumlarda yetkili kişilerle yüz yüze görüşülüp incelenen hastalıklardan hangileriyle ilgili hangi parametrelere, hangi yöntemlerle baktıkları sorulmuş, çalışmanın amacı ve önemi anlatılmış ve çalışmaya katılmayı kabul edip etmedikleri öğrenilmiştir. Kayıtların geriye dönük taranamayacağı 22 laboratuvarın talebi üzerine, pozitiflik saptandıkça doldurulması amacıyla bir form hazırlanıp teslim edilmiştir.

İzleyen aylarda laboratuvarlara olgularla ilgili veri toplamak amacıyla ziyaretler gerçekleştirilmiş, bu tarihten önceki ay(lar)a ait pozitifliklerle ilgili veriler kaydedilmiştir. Laboratuvar sonuçlarının deftere kayıtlı olduğu durumlarda defterler taranarak, bilgisayarda olduğu durumda da bilgisayarda tarama yapılarak verilere ulaşılmıştır. Büyük hastanelerin çoğunda önce laboratuvar defterinden sonucu pozitif olan olgular bulunmuş, ardından bu kişilerin kimlik verilerine hastane bilgisayar sisteminden ulaşılmaya çalışılmıştır. Form bırakılan laboratuvarların sekizinin formu kullanmadığı, dördünün formları olgu çıktıkça doldurduğu, dördünün başlangıçta doldurup sonradan doldurmamaya başladığı, ikisinin hatırlatma üzerine tarayıp formları doldurduğu, dördünün ise yıl boyu hiç olgu saptanmadığı için formun doldurmasına gerek kalmadığı saptanmıştır.

İlgili bulaşıcı hastalıklara dair 2003 yılına ait bildirimler İl Sağlık Müdürlüğünden bilgisayar

ortamında alınmıştır. Araştırmada 2003 yılının tamamına ait veriler, Ocak 2003 - Mart 2005 tarihleri arasında toplanmıştır. Laboratuvarlara gidilerek toplanan veriler, hastaların kimlik bilgileri kullanılarak İl Sağlık Müdürlüğüne yapılan bildirimlerle karşılaştırılmıştır.

Sosyal Sigortalar Kurumu (SSK) hastanelerinin kayıtlarında olguların sadece adı, soyadı ve sigorta sicil numaraları yer aldığından ve başka kimlik verisi bulunmamasından dolayı isim benzerliği olan olgular, sigorta sicil numaraları, başvuru tarihleri ve servis ya da poliklinik adına göre ayırt edilmiştir. Bir kısmının doğum yılı verisine sigorta sicil numarası aracılığıyla ulaşılmış ve bildirimlerle eşleştirirken bundan yararlanılmıştır.

Oluşturulan veritabanında olguların mükerrer kayıtları ayıklanmıştır. İzmir dışında ikamet eden olgular analiz dışı bırakılmıştır. Oturduğu ili belli olmayan olgular tekrar gözden geçirilerek metropol dışı kurumlarda ve metropolde yer alan ikinci basamak hastanelerde saptananlar İzmir olgusu olarak değerlendirilmiştir. İl dışı olguların sevk edilebildiği eğitim hastanelerinde saptananlar ise o hastanede saptanan ve oturduğu ili bilinen olguların il dışı olma oranıyla orantılı sayıda rastgele 'il dışı' olarak işaretlenmiştir. İkamet yeri belli olmayan olguların % 81,2'si SSK hastanelerinde saptanan olgulardır.

Araştırma için Sağlık Bakanlığından yazılı onay ve yerel bir etik kuruldan onay alınmıştır. Araştırmada olgularla ilgili toplanan kimlik bilgilerinin gizliliği büyük önem taşımaktadır. Araştırmada verilerin gizliliğini korumak amacıyla veriler araştırmacıdan başka kimsenin kullanmadığı bir bilgisayarda tutulmuş ve veritabanı şifreyle korunmuştur.

Kurum tipinin bildirim oranına etkisi için istatistiksel test olarak Ki-kare Testi ve Fisher'in Kesin Testi kullanılmıştır. 0,05'in altındaki p değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışma kapsamına giren kamu kurumlarının (n=46) % 93,5'i ve özel kurumların (n=112) % 80,4'ü çalışmaya katılmayı kabul etmiştir. Tablo 1'de araştırmanın evrenini oluşturan 158 kurumun niteliklerine ve çalışmaya katılmayı kabul etme durumlarına göre dağılımı görülmektedir.

Çalışmaya katılmayı kabul eden 133 kurumun % 77,4'ünde (n=103) 2003 yılının tamamına ait veriler eksiksiz toplanmıştır. Kurumların % 5,3'ünde (n=7) kayıt tutulmadığı için verilere ulaşılamamış, % 7,5'inde (n=10) bazı aylara ait veriler eksik kalırken % 6,8'inde (n=9) belli tarih aralığındaki verilere ulaşma olanağının olmaması nedeniyle eksik kalmış, % 3,0'ünde (n=4) laboratuvar 2003 yılı içerisinde kapandığı için tüm yılın verisi toplanamamıştır. Tepecik SSK Hastanesinin kan merkezinden ve 15 Nisan-31 Aralık dönemine ait

olmak üzere seroloji laboratuvarından bruselloz ve sifiliz hariç veriler toplanabilirken 01 Ocak-14 Nisan 2003 arası kızamık, hepatit A, B, C, HIV ve 2003 yılının tamamına ait bruselloz ve sifiliz (kan merkezi hariç) sonuçları, sistemin elvermemesi nedeniyle eksik kalmıştır. İzmir Hıfzıssıhha Enstitüsü Müdürlüğü Bakteriyoloji Laboratuvarından bruselloz ve sifilizin bütün yıla ait verileri tamamlanırken, Ankara Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığından yazılı onay da alındığı halde Viroloji Laboratuvarı verileri alınamamıştır. 2003 Temmuz ayında laboratuvar kayıt sisteminin değişmesi nedeniyle İzmir Askeri Hastanesinde Temmuz-Aralık dönemi verilerine ulaşamamıştır.

Araştırma sırasında çalışmaya katılmayı kabul eden kurumlara toplam 628 ziyaret gerçekleştirilmiş ve 25.147 pozitif sonuçla ilgili veri toplanmıştır.

Tablo 1. İzmir ilinde serolojik test uygulayan kurumların yer, sektör, kurum türü ve çalışmaya katılmayı kabul etme durumlarına göre dağılımı

	Kabul eden		Kabul etmeyen		Toplam
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı
Metropol toplamı	92	80,0	23	20,0	115
Kamu toplamı	25	92,6	2	7,4	27
Hastane	19	95,0	1	5,0	20
Kan merkezi*	4	80,0	1	20,0	5
Laboratuvar	2	100,0	-		2
Özel toplamı	67	76,1	21	23,9	88
Hastane	9	90,0	1	10,0	10
Laboratuvar	58	74,4	20	25,6	78
Metropol dışı toplamı	41	95,3	2	4,7	43
Kamu toplamı	17	94,4	1	5,6	18
Hastane	15	100,0	-		15
Kan merkezi	1	100,0	-		1
Laboratuvar	1	50,0	1	50,0	2
Özel laboratuvarlar	24	96,0	1	4,0	25
Toplam	133	84,2	25	15,8	158

* Bu merkezlerin dördü de aynı hastane bünyesinde olup ayrı test yöntemleri uyguladıkları için ayrı birer kurum olarak değerlendirilmiştir.

Bu sonuçlar arasından şüpheli pozitif ya da kuşku sınırdaki olanların çıkarılması, aynı tarihte aynı laboratuvarlarda aynı kişiye ait olan sonuçların (iki kez bakılan ya da verisi iki kez girilenler) birleştirilmesi ve izole anti-HBc total pozitifliklerinin elenmesiyle toplam pozitif sonuç sayısı 23.515 olmuştur. Kızamık ve hepatit A hastalıklarında bir pozitif sonuç, tek bir parametrenin pozitif saptanmasından oluşmaktadır. Hepatit B, C, bruselloz, sifiliz ve AIDS’de ise bir veya daha çok sayıda parametrenin aynı anda pozitif saptanmasından oluşabilmektedir. Pozitif sonuçların hastalıklara göre dağılımı Tablo 2’de gösterilmektedir.

Hepatit B hastalığına dair DSÖ kriterlerinde yer alan testleri uygulayan kurum sayısı 146, kan alıp dışarıda çalıştıran kurum sayısı ise 10’dur, dolayısıyla İzmir’de serolojik test uygulayan kurumların % 98,7’si hepatit B’ye dair test yapmaktadır. Bu kurumların % 85,3’ü (n=132) araştırmaya katılmayı kabul etmiş ve bunların % 72,0’si (n=95) pozitif sonuç saptamıştır. Saptadıkları toplam pozitif sonuç sayısı 16.076 olup bu sonuçlar 12.433 olguya aittir. Analize sadece anti

HBc IgM dahil edildiğinden Tablo 2’de hepatit B’ye dair olan tüm sonuçlar değil, sadece bu ölçüde ait olan sonuçlar gösterilmektedir.

Aynı olgunun yıl içinde birden fazla tarihte pozitif çıkan sonuçlarının birleştirilmesiyle bu pozitif sonuçların 17.319 olguya ait olduğu görülmüştür. İl dışı olanların da çıkarılmasıyla 2003 yılında laboratuvarlarda saptanan toplam olgu sayısı 13.633 olmuştur. Laboratuvarlarda saptanan olguların kurumlara göre dağılımı Tablo 3’te özetlenmektedir.

İl Sağlık Müdürlüğüne yapılan bildirimler, müdürlük düzeyinde tutulan Form 016’da bildiren kurum türüne göre sınıflandırılırken askeri kurumlar, SSK dispanserleri ve özel kurumların tamamı ‘dış kurum’ adı altında sınıflandırılmıştır. İzmir İl Sağlık Müdürlüğüne 2003 yılına ait 272 kızamık olgusu bildirilmiştir. Bu olguların % 71,7’si (n=195) sağlık ocaklarından, % 19,5’i (n=53) devlet hastanelerinden, % 4,8’i (n=13) AÇSAP merkezi, % 2,2’si (n=6) dış kurum ve % 1,8’i (n=5) SSK hastaneleri tarafından bildirilmiştir.

Tablo 2. Serolojik test kabul eden kurum sayılarının, pozitif sonuçların ve olguların ilgili hastalıklara göre dağılımı

Hastalık	Serolojik test uygulayan kurum sayısı	Kan alıp dışarıda çalıştıran kurum sayısı	Serolojik test bakılan kurum toplamı		Araştırmaya katılmayı kabul eden kurumlar		Pozitif sonuç saptayan kurumlar		Pozitif sonuçlar		Olgular	
			Sayı	%*	Sayı	%**	Sayı	%***	Sayı	%	Sayı	%
Hepatit A	59	53	112	70,9	95	84,8	30	31,6	674	8,4	614	11,6
Hepatit B	51	44	95	60,1	82	86,3	30	36,6	601	7,5	424	8,0
Hepatit C	106	43	149	94,3	126	84,6	52	41,3	4.479	55,7	2.769	52,1
Bruselloz	120	15	135	85,4	118	87,4	58	49,2	1.137	14,1	717	13,5
Sifiliz	103	31	134	84,8	110	82,1	30	27,3	879	10,9	565	10,6
Kızamık	20	-	20	12,7	17	85,0	2	11,8	9	0,1	9	0,2
HIV	117	31	148	93,7	124	83,8	24	19,4	261	3,2	212	4,0
Toplam	152	6	158	100,0	133	84,2	104	65,8	8.040	100,0	5.310	100,0

* Toplam kurum sayısı içindeki yüzde

** İlgili hastalığa dair test uygulayan toplam kurum sayısı içindeki yüzde

*** Kabul eden kurum sayısı toplamı içindeki yüzde

Tablo 3. Bildirilen ve laboratuvarda saptanan olguların kurum türüne göre dağılımı

Kurum türü	Hepatit A			Hepatit B			Hepatit C			Bruseloz			Sifiliz								
	Bildirilen	Lab		Bildirilen	Lab		Bildirilen	Lab		Bildirilen	Lab		Bildirilen	Lab							
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%					
Hastaneler																					
Üniversite	16	2,7	42	7,5	20	8,9	34	8,9	5	5,6	672	29,6	23	19,8	3	2,0	3	3,5	38	18,9	
Devlet hastaneleri																					
Eğitim hastaneleri	228	38,8	204	36,4	33	14,7	84	22,1	69	77,5	367	16,2	30	25,9	26	17,2	22	25,6	3	1,5	
Diğer hastaneler (Belediye Hastanesi dahil)	93	15,8	67	12,0	6	2,7	22	5,8	1	1,1	332	14,6	10	8,6	40	26,5	5	5,8	8	4,0	
SSK hastaneleri																					
Eğitim hastaneleri	147	25,0	109	19,5	102	45,3	189	49,7	7	7,9	593	26,1	26	22,4	16	10,6	5	5,8	9	4,5	
Diğer hastaneler	50	8,5	77	13,8	-	-	31	8,2	1	1,1	126	5,5	12	10,3	22	14,6	2	2,3	8	4,0	
Askeri hastane	VY	-	-	-	VY	-	-	-	VY	9	0,4	VY	9	0,4	VY	1	0,7	VY	-	-	
Özel hastaneler	VY	-	-	-	VY	1	0,3	VY	1	0,3	VY	84	3,7	VY	84	3,7	VY	3	2,0	VY	-
Laboratuvarlar																					
Kamu (kan merkezleri dahil)	-	-	-	-	2	0,9	1	0,3	-	-	6	0,3	-	-	3	2,0	-	-	130	64,7	
Özel (tıp merkezleri ve poliklinikler dahil)	VY	61	10,9	VY	18	4,7	VY	18	4,7	VY	82	3,6	VY	82	3,6	VY	37	24,5	VY	5	2,5
Birinci basamak*	33	5,6	-	-	6	2,7	-	-	-	-	-	-	3	2,6	-	-	-	34	39,5	-	-
Dış kurum**	20	3,4	VY	VY	56	24,9	VY	VY	6	6,7	VY	VY	12	10,3	VY	VY	15	17,4	VY	VY	VY
Toplam	587		560		225		380		89		2271		116		151		86		201		201

VY: veri yok

* Sifiliz hastalığında Deri ve Tenasül Hastalıkları Dispanseri, diğer hastalıklarda sağlık ocakları

** İl Sağlık Müdürlüğü'ne bildirim yapan kurumlardan SSK dispanserleri, askeri kurumlar ve özel sağlık kuruluşlarının sınıflandırıldığı kategori

Aynı dönemde laboratuvarda Rubeola IgM'i pozitif saptanan olgu sayısının 11 olup, bunların ikisinin il dışı, dördünün ikamet yeri bilinmeyen, ikisinin de şüpheli pozitif olgu olduğu belirlenmiştir. İzmir'de oturduğu bilinen üç kesin, iki şüpheli olgudan hiçbirinin İl Sağlık Müdürlüğüne bildirilmediği gözlenmiştir. Bu olgulardan birinin pozitif sonucunun aşıya bağlı olduğu öğrenilmiştir. Hastalıklara dair bildirimlerin kurum türüne göre dağılımı Tablo 3'te sunulmaktadır.

Hepatit B için DSÖ sürveyans kriteri uygulandığında laboratuvarda saptanan toplam olgu sayısı 10.285 ve bunların arasında bildirilen olguların sayısı 157 (% 1,5)'dir. Laboratuvarda saptanan olgu sayısı ve bildirim oranı hesaplanırken hepatit B hastalığı için analize sadece anti-HBc IgM pozitif olan olgular alınmıştır. Hepatit C hastalığında ise hastalığın akut olarak geçirildiğinin göstergesi olan bir serolojik parametre bulunmadığı için laboratuvarda saptanan olgu sayısı çok yüksek olmuştur.

Araştırma kapsamındaki hastalıklar için laboratuvarlarda saptanan olguların bildirilme oranları sırasıyla; hepatit A için % 31,6, hepatit B için % 12,1, hepatit C için % 3,3, bruselloz için % 31,8, sifiliz için % 25,9, kızamık için % 0,0 ve HIV/AIDS için % 100,0 ve laboratuvarda saptanan olgulardan bildirilenlerin sayıları sırasıyla 177, 46, 75, 48, 52, 0 ve 6 idi (15). HIV/AIDS için laboratuvarlarda saptanan 23 olgunun tümünün bildirildiği (17'si önceki yıllarda bildirilmiş olan olgulardı), kızamıkta da laboratuvarda saptanan çok az sayıdaki olgunun hiçbirisi bildirilmediği için bu hastalıkların kurum türünün bildirim oranına etkisi analizi dışında bırakılmıştır. Bildirim oranlarının kurum türüne göre değişimi Tablo 4'te incelenmektedir. Laboratuvarda saptanan olgular sifiliz hariç ağırlıklı olarak kamu hastanelerinde saptandığı (Tablo 3) için bu hastaneler arasında da bildirim oranları açısından karşılaştırma yapılmıştır.

DSÖ kriterlerinde yer alan sifiliz testlerine metropol dışında bakabilen kurum bulunmamaktadır.

Diğer hastalıklarda kamu/özel ve hastane/laboratuvar karşılaştırmaları yapılırken genelde olguların saptandıkları yer gereği analiz kamu hastaneleri ile özel laboratuvarlar arasında yapılmış gibidir. Yine diğer hastalıklardan farklı olarak sifilizde DSÖ kriterini sağlayan olguların çoğu (n=118) bir kamu laboratuvarı olan Karşıyaka Halk Sağlığı Laboratuvarında saptanmış ve bu olguların % 21,2'si bildirilmiştir. Laboratuvarda saptanan olguların 12'si de yine bir kamu laboratuvarı olan İzmir Hıfzıssıhha Enstitüsü Müdürlüğünde saptanmış ve altısı bildirilmiştir. Özel laboratuvarlarda saptanan olgu sayısı ise beş olup ikisi bildirilmiştir.

TARTIŞMA

Araştırma kapsamındaki hastalıklardan hepatit A, B, C, bruselloz ve sifilizde genel olarak bildirim oranlarının oldukça düşük olduğu, HIV/AIDS bildirimlerinin tam olduğu, kızamık sürveyansı için ise laboratuvar verilerinin sürveyansa katkısının olmadığı saptanmıştır. Sağlık Bakanlığına bağlı eğitim hastanelerinde saptanan olguların bildirilme oranı en yüksek iken özel kurumlardakilerin bildirim oranlarının en düşük olduğu belirlenmiştir.

Sektöre göre bildirim farklılıkları incelendiğinde, hepatit A ve C için kamuda saptanan olguların bildirilme oranının özel sektörden anlamlı olarak daha yüksek olduğu, hepatit B için de anlamlıya yakın bir yükseklik olduğu görülmektedir. Brusellozda anlamlı fark saptanmamakla beraber oransal olarak kamuda bildirilme oranı daha yüksek görülmektedir. Sifilizde ise rakamlar analiz için yeterli değildir. Hindistan'da da tüberkülozla ilgili olarak özel sektörün sürveyansa katkısının yetersiz olduğu bildirilmiş ve bunu arttırmak için çeşitli çalışmalar yürütülmüştür (16, 17). Gelişmiş ülkelerde ise böyle bir sorundan pek bahsedilmemektedir çünkü genelde bu ülkelerde laboratuvarlar sürveyans sistemine entegredir ve/veya hekim tarafından yapılan bildirimler birinci basamak temellidir.

Tablo 4. Laboratuvarda saptanan olguların bildirilme oranlarının kurum türüne göre değişimi (bildirilen olgu sayısı, saptanan olgular içinde bildirilen %)

Kurum türü	Hepatit A		Hepatit B		Hepatit C		Bruselloz		Sifiliz	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Sektör										
Kamu	171	34,3	41	11,4	74	3,5	39	35,1	50	25,5
Özel	6	9,8	5	26,3	1	0,6	9	22,5	2	40,0
Ki-kare	15,01		Fisher		4,09		2,165		-	
p	<0,001		0,066		0,043		0,141		-	
Kurum tipi										
Hastane	171	34,3	41	11,4*	16	0,8	39	35,1	18	27,7*
Kan merkezi	-	-	0	0,0*	58	26,7	-	-	1	100,0*
Laboratuvar	6	9,8	5	26,3	1	1,2	9	22,5	33	24,4
Ki-kare	15,01		Fisher		412,327		2,165		0,44	
p	<0,001		0,066		0,000		0,141		0,509	
Kurumun yeri										
Metropol	172	33,9	43	11,6	74	3,5	38	39,6	52	25,9
Metropol dışı	5	9,6	3	37,5	0	0,0	10	18,2	-	-
Ki-kare	12,82		Fisher		6,11		7,386		-	
p	<0,001		0,0601		0,013		0,007		-	
Hastane türleri arası karşılaştırma										
Üniversite hastaneleri	12	28,6	7	20,6	1	0,1	0	0,0**	5	13,2
Kamu üçüncü basamak hastaneleri	131	41,9	29	10,6	71	7,4	24	57,1	4	33,3
Kamu ikinci basamak hastaneleri	28	19,4	5	9,4	2	0,4	15	23,8	10	62,5
Ki-kare	22,65		3,21		77,98		11,99		-	
p	<0,001		0,201		<0,001		<0,001		-	
Sağlık Bakanlığı hastaneleri	105	38,7	23	21,7	65	9,1	21	31,3	10	90,9
SSK hastaneleri	54	29,0	11	5,0	8	1,1	18	47,4	4	23,5
Özel hastaneler	-	-	0	0,0**	0	0,0	0	0,0**	-	-
Ki-kare	4,59		21,35		54,44		2,67		12,13	
p	0,032		<0,001		<0,001		0,102		<0,001	

* Analizlerde bu iki kategori birleştirildi

** Ki-kare testinin geçerli olabilmesi için analiz dışı bırakıldı

Kurum tipine bakıldığında, hastalıklar arasında büyük farklılıklar göze çarpmaktadır: Hastanelerde saptanan Hepatit A olgularının bildirilme oranı, laboratuvarlarda saptananlardan anlamlı düzeyde fazla iken ($p<0,05$) hepatit B’de tersi söz konusudur ancak fark istatistiksel anlamlılık düzeyinin biraz gerisindedir. Hepatit C’de ise çok farklı bir tablo söz konusudur: Kan merkezlerinde saptanan olguların bildirim oranı çok yüksektir. Verilere daha ayrıntılı bakıldığında toplam 75 hepatit C bildiriminin 58 (% 77,3)’ünün Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi’nin kan merkezinden yapıldığı görülmektedir. O dönemde yürürlükte olan bildirim sistemine göre bildirim zorunlu olmayan bu hastalık için bu kurumun, müdürlüğün talebi konusunda diğer kan merkezlerinden daha titiz davrandığı düşünülebilir. Klinisyen olarak genel pratisyenlerin bildirim yaptığı Avustralya’da hepatit A ve boğmaca olgularının % 40’ı, kızamık olgularının % 80’i hekimler tarafından bildirilirken laboratuvarlar hepatit A olgularının % 79’unu, boğmaca olgularının % 66’sını, kızamık olgularının % 25’ini bildirmiştir (18). Hollanda’da sıtma bildirim yükümlülüğünün 1999 yılında hekimlerden alınıp laboratuvarlara devredilmesi bildirimlerde anlamlı düzeyde artış sağlamıştır (19). Ülkemizde yeni bildirim sistemine göre A grubunda yer alan bu hastalıklarda laboratuvarların bildirim sistemine entegre olmaması, hastanelerde saptanan olguların bildirim oranlarının daha yüksek olmasına yol açmıştır (20).

Diğer hastalıkların aksine sifilizde kamu laboratuvarlarında saptanan olgu oranının yüksek olmasının nedeni Karşıyaka Halk Sağlığı Laboratuvarında seks işçilerinin taramalarının yapılmasıdır. Bu olguların bildirim Deri ve Tenasül Hastalıkları Dispanseri tarafından yapılmaktadır.

Kurumların bulunduğu yere göre yapılan analizlerde hepatit A, C ve brusellozda metropolde saptanan olguların bildirilme oranlarının anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır, hepatit B’de

ise metropol dışında anlamlıya yakın bir yükseklik vardır. Metropolde genelde bildirim oranlarının yüksek olmasının ardında yatan neden eğitim hastanelerinin sadece metropol alanda bulunması olabilir. ABD’de coğrafi yerleşimin bildirim oranlarına minör bir etkisinin olduğu belirlenmiştir (5). Hepatit B’de ise metropolde nüfusun dolayısıyla olgu sayısının fazlalığı nedeniyle hekimlerde bildirim konusunda bir duyarsızlık, metropol dışında ise daha az nüfus dolayısıyla daha az sayıda akut hepatit B olgusuyla karşılaşmaktan dolayı bir duyarlılık olabilir. Bu analiz sırasında tanı olanaklarının gelişkin olduğu düşünülebilecek olan İzmir’de metropol dışında sifiliz tanısının konmamış olması, DSÖ kriterlerinin daha üst düzey tanı olanağı gerektirmesi (aynı anda en az iki testin pozitifliği) nedeniyle olabilir.

Hastane türleri karşılaştırıldığında, hepatit A, C ve brusellozda kamu üçüncü basamak hastanelerinde saptanan olguların bildirim oranlarının en yüksek olduğu ve ikinci basamak hastaneleriyle aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır. Hepatit B ve sifilizde anlamlı fark saptanmamakla beraber hepatit B’de üniversite hastanelerinde bu oran daha yüksek iken sifilizde ikinci basamak kamu hastanelerinde daha yüksektir. Hastanelerin bağlı bulunduğu kuruma göre yapılan analizlerde, dört hastalıkta Sağlık Bakanlığı hastanelerinde en yüksek ve anlamlı oran farkı saptanırken brusellozda anlamlı fark olmamakla beraber SSK hastanelerindeki oran en yüksektir. Özel hastanelerde ise bu hastalıklara tanı konan olgu sayıları ya çok azdır (Tablo 3) ya da yoktur (hepatit A, sifiliz); tanı konanların da hiçbiri bildirilmemiştir. Özel laboratuvarlarda tanı konan olguların ise bir kısmı bildirilmiştir. Sağlık hizmetlerinde çok başlılığın, bildirim oranlarında farklılığa yol açtığı görülmektedir. Son yıllarda Sağlık Bakanlığı ve SSK hastanelerinin birleştirilmesi, bu iki farklı kurum türü arasında görülen bildirim farklılıklarını bir miktar ortadan kaldırmış olabilir.

ABD’de bir üniversite hastanesinde bulaşıcı hastalıkların bildirilme oranının % 64 olduğu belirlenmiş ve bu oranın diğer yerlerden daha yüksek olduğu belirtilmiştir (21). Bu çalışmada üniversite hastanelerinde saptanan olguların bildirilme oranının sadece hepatit B için en yüksek olduğu, diğerlerinde üniversitelerin geri planda kaldığı saptanmıştır. Üniversiteler hekimlere hem mezuniyet öncesi, hem mezuniyet sonrası eğitim verdikleri için buralarda bildirimlerin tamlığının sağlanması son derece önemlidir. Eğitici konumdaki hekimlerin örnek olması mezunların çalışacakları kurumlarda bildirim oranlarını arttırması açısından özel önem taşımaktadır.

Bu araştırmanın bir sınırlılığı, bir hastanın yıl içinde farklı zamanlarda birden fazla pozitif sonucu oluyorsa, ilk saptandığı kuruma göre sınıflandırılmasıdır. Olgu eğer bildirildiyse, daha sonra gittiği başka bir kurum tarafından bildirilmiş olabilir. Özelde saptanan olgulardan bir kısmının kamu kurumlarından da bildirildiği tahmin edilmektedir. İl Sağlık Müdürlüğünde bildiren kurum sınıflamasında özel kurumların askeri hastane ve SSK dispanserleriyle birlikte ‘dış kurum’ adı altında sınıflandırılması, bunun ayırt edilmesini engellemiştir.

İnsan gücü ve zaman sınırlılıkları nedeniyle araştırmaya, o dönemde yürürlükte olan bildirim sistemi kapsamında olan hastalıkların tamamı değil, sadece serolojik tanı konulabilen hastalıklar alınmıştır. Bir diğer sınırlılık, hepatit C’de hastalığın akut olup olmadığını gösteren bir parametre olmaması nedeniyle kronik ve taşıyıcıların da bildirimler arasında yer almasıdır. 2003 yılında yürürlükte olan bildirim sisteminde standart vaka tanımları bulunmadığı için Hepatit B’de de kronik ve taşıyıcı olgular bildirilmiştir, hatta bunlar akut olanlardan daha yüksek oranda bildirilmişlerdir. Ancak analiz anti-HBc IgM pozitif olgularla sınırlandırıldığı için daha sağlıklı bir değerlendirme yapılabilmektedir. Yeni bildirim sisteminde standart vaka tanımlarının uygulamaya konmasıyla bildirilecek olgunun

seçimindeki bu karışıklığın önüne geçilmiş olabileceği düşünülmektedir (20).

Çalışmanın bir diğer sınırlılığı, kapsamının İzmir iliyle sınırlı olmasıdır. Türkiye için genelleme yapmak mümkün olmamakla beraber, 6.500-7.000 hekimin çalıştığı Türkiye’nin üçüncü büyük ili olarak hekimlerin bildirme davranışının benzer olabileceği tahmin edilmektedir (22). Bildirim sisteminin 2005 yılında değişmesinin ardından verilen eğitimlerle hekimlerin bildirme davranışının bir miktar değiştiği düşünülebilir. Ancak araştırma kapsamındaki hastalıkların tamamı yeni sistemde Grup A kapsamındadır ve vaka tanımları dışında bildirim şekli değişmemiştir. Bildirimler yine klinisyenler tarafından yapılan pasif sörveyans şeklindedir. Yeni bildirim sistemine geçildikten sonra bruselloz sörveyansının duyarlılığını ve zamanındalığını inceleyen bir çalışmada İzmir’de mikrobiyoloji laboratuvarlarında saptanan bruselloz olgularının % 27,6’sının bildirildiği saptanmıştır (23). Bu oran, bu çalışmada saptanan bildirim oranı olan % 31,8’e çok yakındır (15). Dolayısıyla yeni bildirim sisteminde de bildirim davranışının en azından bu hastalık için pek değişmediği söylenebilir.

Sağlık hizmeti sunan farklı kurum türlerinin bildirimleri arasında farklılıklar bulunmaktadır. Kentte yer alan kurumlarda ve Sağlık Bakanlığına bağlı eğitim hastanelerinde bildirim oranları daha yüksektir. Kurumlar arası bildirim farklılıklarının bilinmesi, bildirimlerin arttırılmasına yönelik girişimlerde yol gösterici olacaktır. Bir üniversite hastanesinde ana bilim dallarına kendi bildirim oranlarıyla ilgili geri bildirim yapılmasının, kliniklerin bulaşıcı hastalık bildirim oranlarında ve bunun da tüm hastanenin bildirimlerinde de anlamlı miktarda artışa yol açtığı belirlenmiştir (24). Bu veriden yola çıkılarak, kurumlara bildirim oranlarıyla ilgili geri bildirim yapılmasıyla bildirimlerdeki tamlığının arttırılması sağlanabileceği varsayılmaktadır.

Sonuç olarak; bildirim oranı en yüksek olan olgular, genelde Sağlık Bakanlığının eğitim hastanelerinde tanı konanlardır. Ancak bu olguların dahi bildirim

oranları oldukça düşüktür. Bu araştırmada laboratuvar verilerinin bu hastalıkların sürveyansına da önemli bir katkı yapabileceği görülmektedir. ‘A Grubu hastalıklar’ başlığı altında sınıflandırılan hastalıklar için ‘D Grubu Hastalıklar’da olduğu gibi laboratuvar sürveyansının yapılması, bildirimlerin tamlığına önemli ölçüde katkı sağlayacaktır.

TEŞEKKÜR

Araştırmaya katılan kurum ve laboratuvarlara gösterdikleri iyi niyet, ayırdıkları zaman ve verilerine erişim olanakları sundukları için teşekkür ederiz. Araştırmaya SBAG-2589 no.lu proje desteğini sağlayan TÜBİTAK’a teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

1. WHO. Communicable Diseases 2000. 1. Basım. Cenevre: WHO, 2000.
2. Ellidokuz H, Aksakoğlu G. Enfeksiyon Hastalıklarına Epidemiyolojik Bakış. STED, 2002; 11 (4): 291-4.
3. Giesecke J. Modern Infectious Disease Epidemiology. Londra: Arnold, 1994.
4. Dechant EJ, Rigau-Perez JG. Hospitalizations for suspected Dengue in Puerto Rico, 1991-1995: Estimation by capture-recapture methods. Am J Trop Med Hyg, 1999; 61: 574-8.
5. Doyle TJ, Glynn MK, Groseclose SL. Completeness of notifiable infectious disease reporting in the United States: An Analytical Literature Review. Am J Epidemiol, 2002; 155 (9): 866-74.
6. Eren N, Hamzaoğlu O. Türkiye’de Bulaşıcı Hastalıklar (1925-1993). Ankara: TTB, 1996.
7. Akın L. Türkiye’de cinsel yolla bulaşan enfeksiyonların epidemiyolojisi. Türkiye Klin Tıp Bilim Derg, 2006; 26: 655-65.
8. Keskinler ÜD. Erzurum İl Sağlık Müdürlüğü kayıtlarında yer alan bildirim zorunlu bulaşıcı hastalıkların değerlendirilmesi. İnönü Üniv Tıp Fak Derg, 2003; 10(2) 77-81.
9. Şahin TK, Kara F. Bildirimi zorunlu bulaşıcı hastalıkların Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi’nden bildirim durumu. VI. Ulusal Halk Sağlığı Günleri: Türkiye’de 2000’e Doğru Bulaşıcı Hastalıklar Sorunu, Malatya, 1999.
10. Durusoy R. The direct cost of hepatitis A in Izmir Dr. Behçet Uz Pediatric Hospital in 1999. International Public Health Congress: “Health 21 in Action”, İstanbul, 2000.
11. Öztöp A, Ünsal İ, Özgü A, Özgüven S, Köse İ, Çakmak R. 1999-2002 yılları arasında Kahramanlar Verem Savaşı Dispanseri’ne yapılan tüberkülozlu hasta bildirimlerinin değerlendirilmesi. Toraks Derg, 2005; 6 (3): 243-50.
12. Sağlık Bakanlığı. Veri Toplama ve Bildirim Formları Kullanım Kılavuzu. Ankara: Sağlık Bakanlığı, 1996.
13. WHO. WHO Recommended Surveillance Standards. 2. Basım. Cenevre, 1999.
14. Durusoy R. Bulaşıcı Hastalık Bildirimlerinin Laboratuvar Tanısıyla Desteklenmesi: İzmir İlinde Bir Yöneylem Araştırması. TÜBİTAK proje raporu SBAG-2589, 2005.
15. Durusoy R, Karababa AO. Completeness of hepatitis, brucellosis, syphilis, measles and HIV/AIDS surveillance in Izmir, Turkey. BMC Public Health, 2010; 10: 71.
16. Kumar MK, Dewan PK, Nair PK, et al. Improved tuberculosis case detection through public-private partnership and laboratory-based surveillance, Kannur District, Kerala, India, 2001-2002. Int J Tuberc Lung Dis, 2005; 9 (8): 870-6.
17. Dewan PK, Lal SS, Lonroth K, et al. Improving tuberculosis control through public-private collaboration in India: literature review. BMJ, 2006; 332 (7541): 574-8.
18. Allen CJ, Ferson MJ. Notification of infectious diseases by general practitioners: a quantitative and qualitative study, Med J Aust, 2000; 172 (7): 325-8.
19. Klein S, Bosman A. Completeness of malaria notification in the Netherlands 1995-2003 assessed by capture-recapture method. Euro Surveill, 2005; 10 (10): 244-6.
20. Bayazıt Y. Türkiye’de bulaşıcı hastalıklar bildirim sistemi. Türk Hij Den Biyol Derg, 2005; 62 (1-3): 73-6.
21. Campos-Outcalt D, England R, Porter B. Reporting of communicable diseases by university physicians. Public Health Rep, 1991; 106 (5): 579-83.
22. İzmir Tabip Odası ile kişisel iletişim, 9 Aralık 2009.
23. Emek M, Sekreter O, Özdemirer U ve ark. Evaluation of the performance of Brucella surveillance system in terms of sensitivity and timeliness in Ankara and Izmir, 2005-2006. European Scientific Conference on Applied Infectious Disease Epidemiology (ESCAIDE), Stockholm, 26-28 Ekim 2009, sf.116.
24. Durusoy R, Kantar M. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi’nde bulaşıcı hastalık bildirimlerini geliştirmek için laboratuvar tanıların kullanımı ve bulaşıcı hastalıklar bildirim komitesinin rolü. Ege Tıp Derg, 2009; 48 (2): 109-18.

EPİTELYAL OLMAYAN OVER KANSERLERİNDE PCNA EKSPRESYONU VE PROGNOZA ETKİLERİ

PCNA Expression in Non-Epithelial Ovarian Tumors and Correlation of Prognosis

Faruk ABİKE¹, Sema ZENGEROĞLU², İlkan DÜNDER³

¹ Bayındır Hastanesi,
Kadın Hastalıkları ve
Doğum Kliniği, ANKARA

² Dr Zekai Tahir Burak
Kadın Sağlığı Eğitim ve
Araştırma Hastanesi,
Patoloji Bölümü, ANKARA

³ Bilim Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Jinekolojik Onkoloji Bölümü,
İSTANBUL

Geliş Tarihi: 04.02.2010
Kabul Tarihi: 12.05.2010

İletişim:
Faruk ABİKE
Bayındır Hastanesi,
Kadın Doğum Kliniği, ANKARA
Tel : +90 312 287 90 00
E-posta : farukabike@gmail.com

ÖZET

Amaç: PCNA kolorektal ve mesane kansinomlarında proliferasyon belirtici olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, PCNA'nın non-epitelyal over tümörlerinde proliferasyon indeksi olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır.

Yöntem: Patolojik olarak non-epitelyal over kanseri tanısı alan 30 olgunun PCNA immünreaktivitesi, streptoavidin-biotin antikor kompleksi kullanılarak değerlendirilmiştir. PCNA immünreaktivitesi ve LI indeksi ile non-epitelyal tümörlerdeki stage, grade ve lenf nodu tutulumu arasındaki olası ilişki araştırılmıştır.

Bulgular: Çalışmamıza alınan hastaların yaş ortalaması 52.6 ± 6.7 , ortalama doğum sayısı 3.1 ± 1.5 ve ortalama vücut kitle indeksleri 26.7 ± 4.2 kg/m² olarak belirlenmiştir. Olguların % 83'ü postmenopozal, % 17'si premenopozal dönemde olduğu, % 47'sinin 5 yıldan uzun süreli sigara kullanımı öyküsü bulunduğu saptanmıştır. En sık rastlanan histolojik tipin disgerminom (% 27) olduğu, klinik evrelerine göre dağılımlarının ise; stage 1, 2, 3 ve 4 için sırasıyla % 33, % 13, % 47, % 7 olduğu gözlenmiştir. Histolojik olarak % 47'si grade 3, % 33'ü grade 2 ve % 20'si grade 1 olarak belirlenmiştir. Nonepitelyal over tümörlerinde klinik stage ve grade arttıkça PCNA immunreaktivitesi ve Li indeksi de paralel olarak anlamlı artış göstermiştir (p<0.001). Diğer taraftan lenf nodu tutulumu ve tümör histolojik tipi ile PCNA immunreaktivitesi arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (p>0.05).

Sonuç: Non epitelyal over tümörlerde klinik ve histolojik evre ile PCNA ekspresyonu arasında bir korelasyon bulunmakla beraber, tümör proliferasyonu indeksi olarak PCNA kullanımı için daha ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Anahtar Sözcükler: Non epitelyal over tümörleri, PCNA, prognoz

ABSTRACT

Objective: In colorectal and bladder carcinoma PCNA is used as a proliferation marker. In this study the utility of PCNA as a proliferation index in non-epithelial ovarian tumors was examined.

Method: In 30 cases diagnosed by routine pathological procedures as non-epithelial ovarian cancer, the PCNA immunoreactivity was evaluated by a streptoavidin-biotin antibody complex. The possible correlations between PCNA immunoreactivity and LI index with stage, grade and lymph node involvement in non epithelial ovarian tumors were investigated.

Results: In our study, average patient age 52.6 ± 6.7 years old, average parity 3.1 ± 1.5 and average BMI 26.7 ± 4.2 kg/m² were determined. It was found that 83 % of the patients were at postmenopausal period and 17 % premenopausal; 47 % of patients were smoking over the five years. Most common hystological type was found as dysgerminoma (27%) and clinical stage distributions were determined as stage 1 (33%), stage 2 (13%), stage 3 (47%), stage 4 (7%) in all patients. Grade 1 (20%), grade 2 (33%) and grade 3 (47%) were found according to histological classification.

In our study, it was determined in non-epithelial ovarian tumors that as stage and grade of tumor increased, PCNA immunoreactivity and LI index were also elevated statistically ($p < 0.001$). No statistically meaningful correlation was found between PCNA immunoreactivity and lymph node involvement, or in PCNA and histopathological type of the tumor ($p > 0.05$).

Conclusion: Further studies are needed in order to use PCNA as tumor proliferation index in non-epithelial ovarian tumors.

Key Words: Non epithelial ovarian tumors, PCNA, Prognosis

GİRİŞ

Her yıl 100,000 kadından yaklaşık olarak 15-25'i over kanserine yakalanmaktadır (1-3). Non epitelyal over kanserleri, epitelyal tümörlerden sonra en sık görülen ikinci sıradaki over tümör grubudur (%15-20) (4-6). 20 yaş altı kadınlarda en sık görülen over tümörleridir (%70) ve yaklaşık olarak %30'u maligndir (7-9).

Miyachi ve arkadaşları, 1978 yılında sistemik lupus eritamatozisli bir hastanın serumunda proliferasyondaki hücrelerin çekirdeğinde bulunan bir antijeni tespit etmişler ve buna PCNA (Prolifere olan hücre nükleer antijeni) adını vermişlerdir (10). PCNA, normal hücre siklusu sırasında sentezlenen ve hücre siklusunu düzenleyen bir proteindir (11,12). PCNA nükleotid eksizyonu tamir olayında rol oynamakta ve böylece siklusta olmayan DNA'sı hasarlanmış hücrelerde de ekspresyonu olmaktadır (13,14). PCNA'nın immünohistokimyasal olarak saptanması hem aktif DNA replikasyonunu hem de karsinogenezis ile sonuçlanan DNA hasarını göstermektedir. PCNA ekspresyonu düzensiz hücre proliferasyonunun göstergesi olarak kullanılabilir (15).

Bu çalışma kapsamında, epitelyal olmayan over tümörlerinde PCNA ekspresyonu ile grade, stage, lenf nodu tutulumu ve metastazlar arasındaki ilişki araştırıp prognoza etkisi incelenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Non-epitelyal over tümörü tanısı alan, yaşları 17-82 arasında değişen 30 olgunun ameliyat örnekleri %10'luk formalinle fikse edilerek patoloji laboratuvarına gönderilmiştir. Patolojideki örnekler rutin doku takip işlemlerinden geçirildikten sonra parafin bloklar hazırlanarak bu bloklardan 5 mm'lik kesitler yapılarak hematoksilin eozinle (HE) boyandıktan sonra değerlendirme yapılmıştır. Tümörlerin klinik özellikleri göz önünde bulundurularak grade, stage, metastaz ve tümör tipi açısından World Health Organization (WHO) ve International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) kriterlerine göre sınıflandırılmıştır (16,17).

Parafin bloklardan 5 mm'lik kesitler hazırlanarak 60°C'de bir gece etüvde (ULVAC TH-500)

bekletilmiştir. Rutin deparafinizasyon işleminden sonra kesitler “Biogenex’s Str Avi Gen Süpersensitivite ve Universal İmmünostaining Kit”, PCNA PC10 monoklonal fare primer antikorları kullanılarak indirekt Biotin-Streptoavidin Amplified (B-SA) sistemi ile boyanmıştır.

Elde edilen veriler istatistiksel olarak “Ki-kare testi”, “Mann-Whitney U testi”, “Fisher’s Exact test” ve “Kruskal-Wallis testi” kullanılarak karşılaştırılmıştır.

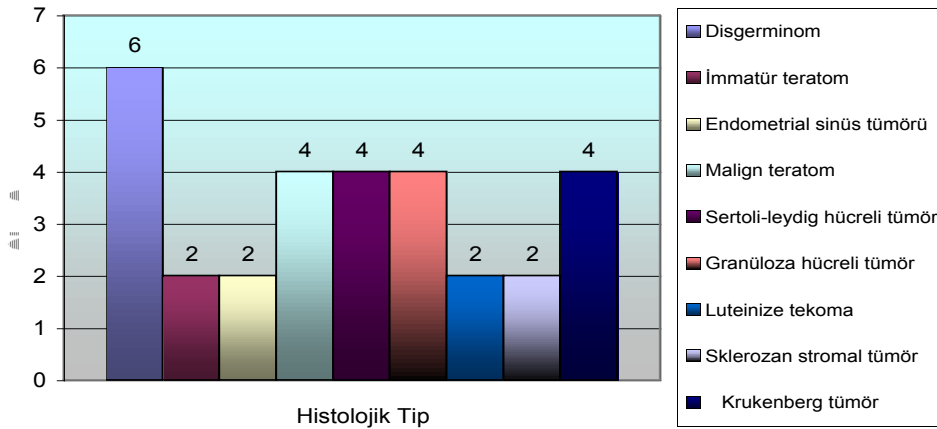
BULGULAR

Çalışmamıza alınan hastaların yaş ortalaması 52.6 ± 6.7 olup ortalama doğum sayısı 3.1 ± 1.5 ’idi.

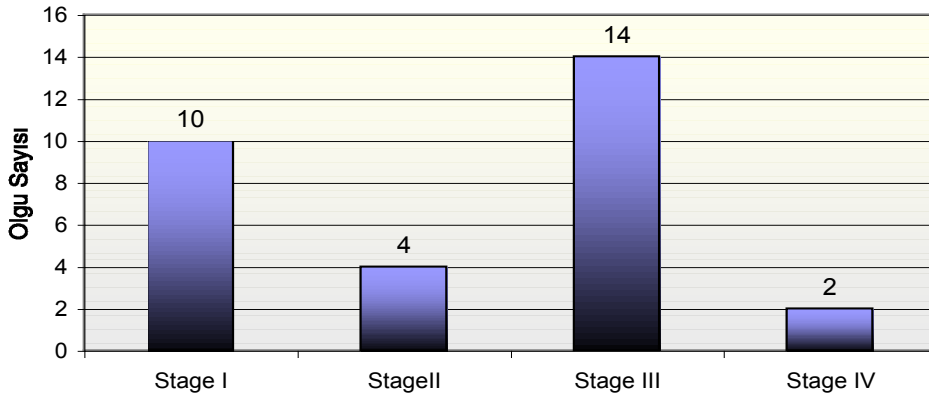
Hastaların % 83’ü (n=25) postmenopozal, % 17’si (n=5) premenopozal dönemdeydi. Hastaların % 47’sinin (n=14) 5 yıldan uzun süreli sigara kullanımı öyküsü vardı. Ortalama vücut kitle indeksleri 26.7 ± 4.2 kg/m^2 idi.

Çalışma grubumuzda en sık rastlanan histolojik tip Disgerminom (% 27, n=6) olarak tespit edilmiştir. Olguların histolojik tiplere göre dağılımları Şekil 1’de verilmiştir.

Çalışma grubundaki olguların klinik evrelerine göre dağılımı incelendiğinde; stage 1 % 33 (n=10), stage 2 % 13 (n=4), stage 3 % 47 (n=14), stage 4 % 7 (n=2) olarak saptanmıştır (Şekil 2).



Şekil 1. Non epitelyal over tümörü olan 30 olgunun histolojik tiplere göre dağılımları



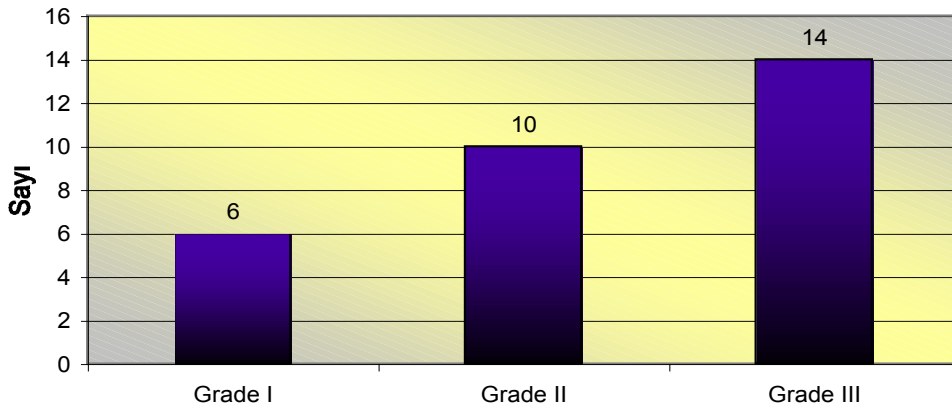
Şekil 2. Non epitelyal over tümörü olan 30 olgunun stajelere göre dağılımı

Çalışma grubundaki hastalar histolojik olarak değerlendirildiğinde % 47 (n=14)'si grade 3, % 33 (n=10)'ü grade 2 ve % 20 (n=6)'si grade 1 olarak saptanmıştır (Şekil 3).

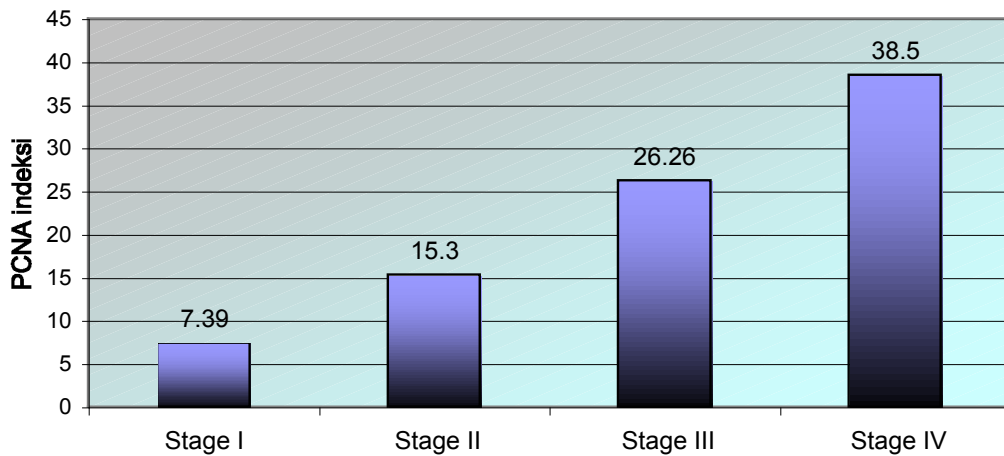
Tümörün histolojik tipi ile PCNA reaktif boyanma özellikleri arasında anlamlı istatistiksel fark belirlenmemiştir (p=0,67). Stajelere göre PCNA reaktivitesi incelendiğinde, Stage 1'de PCNA Li indeksi 7.39 bulunurken, Stage 4 olgularda PCNA Li indeksi 38.5 olarak tespit edilmiştir. Klinik stage arttıkça buna paralel olarak PCNA

Li indekslerinde de paralel olarak istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir (p=0.0008) (Şekil 4).

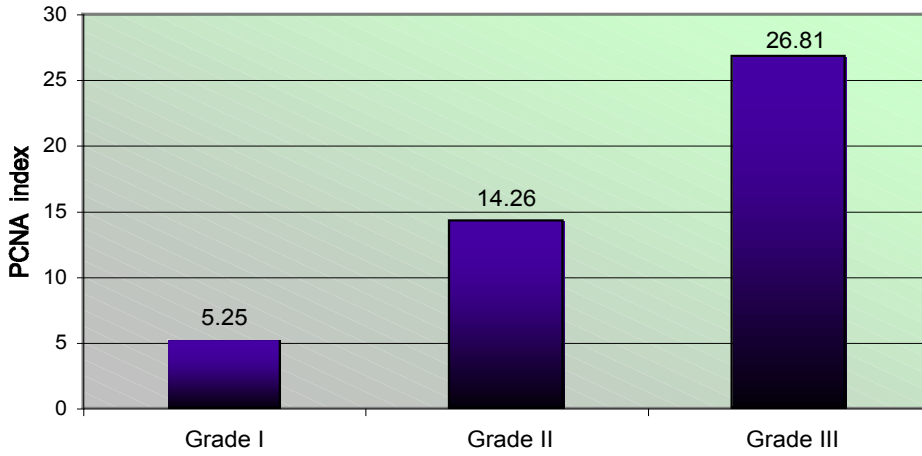
Histolojik gradelere göre PCNA indeksleri değerlendirildiğinde; Grade 1'de PCNA Li indeksi 5.25; grade 2'de 14.26 ve grade 3 de ise 26.81 olarak saptanmıştır. Tümörün grade derecesi arttıkça PCNA Li indekslerinde de anlamlı olarak artış belirlenmiştir. Grade'lere göre PCNA değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.0004) (Şekil 5).



Şekil 3. Non epitelyal over tümörü olan 30 olgunun gradelere göre dağılımı



Şekil 4. Non epitelyal over tümörü olan olguların stajelere göre PCNA indeksleri



Şekil 5. Non epitelyal over tümörlü olguların gradelere göre PCNA indeksleri

Lenf nodu tutulumu olan 19 olgudan sekizinde (%42) PCNA reaktivitesi varken lenf nodu tutulumu olmayan 11 olgunun altısında (%54) PCNA reaktivitesi belirlenmiştir. Lenf nodu tutulumu olan ve PCNA reaktif olguların ortalama PCNA indeksleri 21.25 ± 2.59 iken lenf nodu tutulumu olmayan PCNA reaktif olguların ortalama PCNA indeksleri $18,6 \pm 4.56$ olarak saptanmıştır. Non-epitelyal over tümörlerinde, lenf nodu tutulumu ile PCNA ekspresyonu arasında korelasyon tespit edilmemiştir ($p=0.078$).

TARTIŞMA

Over kanserleri kadın ölümlerinde jinekolojik kanserler arasında birinci sırada, tüm kanserler arasında beşinci sırada yer almaktadır. Over kanserlerine bağlı mortalitenin bu kadar yüksek olmasının nedeni tanı konulan tüm olguların çoğunun ileri evrelerde belirlenebilmesidir (18-21).

PCNA, hematolojik maligniteler, gastrointestinal sistem maligniteleri, meme, cilt, akciğer ve üriner sistem malignitelerinde proliferasyon indeksi olarak başarılı bir şekilde kullanılmıştır (11-14).

Çalışmamızda tümörlerin histolojik tipleri ile PCNA immünreaktivitesini karşılaştırdığımızda anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Garzetti ve arkadaşları

ise 35 endometrial karsinomlu hastanın operasyon öncesi küretaj materyallerinde, yüksek PCNA ekspresyonu olan hastalarda daha fazla myometriyal invazyon olduğunu belirlemişlerdir (22).

Bizim çalışmamızda non-epitelyal over tümörlerinde lenf nodu tutulumu ile PCNA pozitifliği arasında korelasyon saptanamamıştır ($p>0.05$). Xue ve arkadaşları 60 servikal intraepitelyal neoplazili (CIN) ve servikal kanser nedeniyle opere hastaların materyallerinde yaptığı çalışmada, PCNA ve mitotik indeksin CIN I-II' ye oranla CIN III ve servikal kanserde daha yüksek olduğunu belirlemiş ancak PCNA ve mitotik indeks yüksekliği ile lenf nodu metastazı ve klinik evre arasında korelasyon olmadığını vurgulamışlardır (23).

Çalışmamızda tümör grade'i ve stage ile PCNA LI indeksleri arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur ($p<0.001$). Tümör grade ve stage arttıkça PCNA LI indeksi pozitifliği korele olarak artış göstermektedir. Nakano ve arkadaşları 27 over karsinomlu hastada yaptığı çalışmada stage ve grade ile PCNA indeksleri arasında korelasyon belirlemiştir (24). Li ve arkadaşlarının 84 epitelyal over karsinomlu hastada yaptıkları çalışmada, PCNA ekspresyonun beş yıllık yaşama süresi ve prognoz ile herhangi bir ilişkisi saptanamamıştır (25). Mesane ve kolorektal

kanserler için de benzer bir korelasyon bulunmuştur (11-15, 18).

Jinekolojik malignitelerde tanı ve prognoz için PCNA ile ilgili yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Çalışmaya alınan hasta grubundaki sayının düşük ve homojen olmamasının bu bağlantıyı etkilediği

düşünülmektedir. Gelecekte PCNA'nın jinekolojide proliferasyon indeksi ve prognoz belirteci olarak kullanılabilirliğinin araştırılması için daha geniş ve homojen vaka grupları üzerinde yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Dodd JK, Henry RJW, Tyler PP, Houghton CRS. Cervical Carcinoma: A comparison of four potential biochemical tumor markers. *Gynecol Oncol* 1989; 32:248.
2. Sciarra JJ, Knapp RC, Berhomitz RS. Naturel history and detection of ovarian cancer. *Gynecol Obstet*, 1984; 28: 1-14.
3. Yavuz H, Tezcan S, Erk A. Over karsinomları. *Kadın Genital Kanserleri Kitabı*, 1978; 9: 385-438.
4. Scully RE. Tumors of the ovary and mal developed gonads. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1979; 16: 247-56.
5. Abu-rustum NR, Aghajanian C. Management of malignant germ cell tumors of the ovary. *Semin Oncol*, 1998; 25(2): 235-42.
6. Chen LM, Berek JS. Ovarian and Fallopian Tubes, In: Haskell CM, eds. *Cancer Treatment*. 5 th ed. Philadelphia. WB Saunders, 2000: 928-76.
7. Imai A, Furvi T, Tamai T. Gynecologic tumors and symptoms in childhood and adolescence: 10 year experience. *Gynecol Obstet*, 1994; 45: 227-34.
8. Obata NH, Nakasima N, Kawai M, Nikkanua F, Mombe s, Tomeda Y. Gonadoblastoma with disgerminoma in one ovary and gonadoblastoma with disgerminoma and yolc salk tumor in the contralateral ovary in a girl with 46XY karyotype. *Gynecol Oncol*, 1995; 58: 124-8.
9. Arroyo JG, Harris W, Laden SA. Recurrent mixed germ cell sex cord stromal tumor of the ovary in an adult. *Int J Gynecol Pathol*, 1998; 17(3): 281-3.
10. Miyachi K, Fritzler MJ, Tan EN. Autoantibody to nuclear antigen in proliferatif markers. *J Immunology*, 1978; 121: 2228-34.
11. Ogata K, Kurki P, Celic J. Monoclonal antibodies to a nuclear protein associated DNA replication. *Exp Cell Res*, 1986; 168: 476-86.
12. Iachino C, Katsikoyiannis N, Dallera F. Assessment of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunoreactivity in carcinomas. *Pathologica*, 1995; 87: 56-8.
13. Jaskulski D, Gatti C, Travali S, Calabretta B, Baserga R. Regulation of the proliferating cell nuclear antigen cyclin and thymidine kinase m RNA levels by growth factors. *J Biol Chem*, 1998; 263: 101-7.
14. Scott RJ, Hall PA, Haldane JS et al. A comparison of immunohistochemical markers of cell proliferating with experimentally determined growth fraction. *J Pathol*, 1999; 165: 173.
15. Andre F, Fiazzi K, Culline S, Droz JP, Gatineau M, Takahashi Y, Oudard S, Theadore C. Peritoneal carsinomatososis in germ cell tumor: relations with retroperitoneal lymph node dissection. *Am J Clin Oncol*, 2000; 23(5): 460-2.
16. Benedet JL, Bender H, Ngan HY, Pecorelli S. FIGO staging classifications and clinical practice guidelines in the management of gynecologic cancers. FIGO Committee on Gynecologic Oncology, 2000; 70(2): 209-62.
17. Kaku T, Ogawa S, Kawano Y, Ohishi Y, Kobayashi H, Hirakawa T, et al. Histological classification of ovarian cancer. *Med Electron Microsc*, 2003; 36(1): 9-17.
18. Julian CG, Woodruff JD. The biological behavior of low grade papillary serous carcinoma of the ovary. *Obstet Gynecol*, 1972; 40: 860-7.
19. Genodry R, Poliakoff S, Rotmensch J, Rosenshein NB, Parmley TH, Woodruff JD. Primary papillary peritoneal neoplasia. *Cancer* 1988; 62: 2212-22.
20. Smith LH and Oi RH. Detection of malignant ovarian neoplasms, a review of the literature. Detection of the patient at risk, clinical, radiological and cytological detection. *Obstet Gynecol Survey*, 1984; 39: 313-28.

21. Snider DD, Stuart GC, Nation JG and Robertson DI. Evaluation of surgical staging in stage 1 low malignant potential ovarian tumors. *Gynecol Oncol*, 1991; 40: 129-32.
22. Garzetti GG, Ciavattini A, Goteri G, De Nictolis M, Romanini C. Proliferating cell nuclear antigen in endometrial carcinoma: pretreatment identification of high-risk patients. *Gynecol Oncol*, 1996; 61(1):16-21.
23. Xue Y, Feng Y, Zhu G, Zhang X. Proliferative activity in cervical intraepithelial neoplasia and cervical carcinoma. *Chin Med J (Eng)*, 1999; 112(4):373-5.
24. Nakano T, Enoki K, Nakashima M, Ishikawa H, Ametani Y, Ohta S, Ohkuchi A, Satake S, Kojima Y, Funamoto H, Tateno M, Miwa A. Survival in patients with clear cell carcinoma of the ovary. *Gan To Kagaku Ryoho*, 1998; 25(1):67-73.
25. Li JD, Li MD, Li YF, Huang X, Liu JH, Liu FY, Zhang CQ. Relationship between expressions of p53, c-erb genes, proliferating cell nuclear antigen and prognosis of patients with ovarian epithelial carcinoma. *Al Zheng*, 2002; 21(3):292-6.

HİDATİK KİSTTE CANLILIK TAYİNİNDE İDEAL BOYANMA KALİTESİ İÇİN KULLANILAN EOZİNİN KONSANTRASYONU NE OLMALI ?

What Should Be The Concentration of Eosin to Qualification of Ideal Staining for Viability Determination on Hydatid Cyst ?

Özlem MİMAN¹, Ö. Makbule AYCAN¹, Cemalettin AYDIN², Metin ATAMBAY¹

¹ İnönü Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Parazitoloji AD,
MALATYA

² İnönü Üniversitesi,
Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi AD,
MALATYA

Geliş Tarihi: 20.04.2010
Kabul Tarihi: 12.05.2010

İletişim:
Özlem MİMAN
Aydın Kocatepe Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Mikrobiyoloji AD,
AFYONKARAHİSAR
Tel : +90 272 246 33 33-1064
E-posta : ozlmiman@yahoo.com

ÖZET

Amaç: Hidatik kistte canlılık tayini, in vitro ve in vivo çalışmaların yanı sıra ilaç denemelerine yönelik çalışmalarda da önem arz etmektedir. Fertil kistlerde protoskolekslerin canlılık oranlarını saptamak amacıyla neutral red, methylene blue, eosin, Papanicolao, Giemsa, Ziehl-Neelsen, toluidine blue ve trypan blue gibi çeşitli vital ve avital boyalar kullanılmaktadır. Yaygın olarak ise eosin tercih edilmektedir. Prosedürlerde farklı konsantrasyonlarda eosin kullanıldığı görülmektedir. Bu çalışma ile protoskoleks canlılığının araştırılmasında kullanılan eosinin ideal konsantrasyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Protoskoleksler eosinin % 0.05, % 0.1, % 1, % 3 ve % 5'lik konsantrasyonları ile muameleye tabi tutulmuştur. Eozin boyama yöntemi ile 500 protoskoleks 0., 5., 15., 30. ve 60. dakikalarda canlılık yönünden incelenmiştir.

Bulgular: Alev hücreleri motilitesi ve kontraktilitesinin değerlendirmesine dayalı protoskolekslerin canlılık testinde kullanılacak eosin için ideal konsantrasyonlar % 0.1 ve % 1 olarak saptanmıştır. % 1'den yüksek eosin konsantrasyonlarında; canlı protoskolekslerin koyu boyanan zemin üzerinde ayırt edilmesinin zor olduğu izlenmiştir. % 0.1'den düşük konsantrasyonlarda ise; alev hücresi motilitesi ve kontraktilite olmamasına karşın, ölü protoskolekslerin "canlı" olarak hatalı bildirilebileceği belirlenmiştir.

Sonuç: Eozin ucuz, toksisitesi az, kolay hazırlanabilir ve ulaşılabilir bir boya maddesidir. Bu özellikleri nedeniyle protoskolekslerin canlılık testlerinde tercih edilen eosinin, ideal boyanma kalitesi ve doğru canlılık kararına yardımcı olabilmesi için % 0.1 ve % 1'lik konsantrasyonların kullanılması önerilmektedir.

Anahtar Sözcükler: Hidatik kist, protoskoleks, canlılık

ABSTRACT

Objective: The viability assessment in hydatid cyst is important for both in vitro and in vivo studies, and also in drug experiments. Several vital and avital stains as neutral red, methylene blue, eosin, Papanicolao, Giemsa, Ziehl-Neelsen, toluidine blue and trypan blue have been used to assess viability of protoscoleces in fertile cysts. Of them, eosin is the most widely preferred stain. Various concentrations of eosin have been used in the dying procedures. In this study, it was aimed to determine the ideal concentration of eosin for assessing protoscoleces fertility.

Method: Protoscolecies were treated with eosin concentrations: 0.05 %, 0.1 %, 1 %, 3 %, and 5 %. A total of 500 protoscolecies were examined by eosin staining techniques with 0., 5., 15., 30. and 60.-minute intervals.

Results: Ideal concentrations of eosin which will be used for viability test to determine the motile flame cells and contractile protoscolex were found as 0.1 % and 1 %. In viability test of protoscolex, above the 1 % concentration of eosin caused difficulty in the decision of viability because of the darker background. On the otherhand, at lower concentrations of eosin less than 0.1 %, despite no flame cells motility and protoscolex contractility, dead protoscolex would be misidentified as “ alive”.

Conclusion: Eosin is a dye which is cheap, less toxic, easily prepared and available at anywhere. Because of those properties, it is preferred for the viability test of protoscolex and is recommended to use between 0.1 % and 1 % concentrations for the ideal staining to viability determination.

Key Words: Hydatid cyst, protoscolex, viability

GİRİŞ

Kistik ekinokokkozis ülkemiz açısından önemli bir halk sağlığı problemi olarak değerlendirilen zoonozlardan biridir. Bu hastalık *Echinococcus granulosus*'a ait larval formun (hidatik kist) insan ve hayvanlarda oluşturduğu bir paraziter hastalıktır. Ekinokokkozis, benign karakterli olmasına rağmen, özellikle tanının geç konması durumlarında; gerek komplikasyonları gerekse yaptığı doku harabiyetleri ile ciddi sonuçlar doğurabilmektedir (1). Hastalığın epidemiyolojisinde, çeşitli ara konaklardaki fertilitate oranlarının çok büyük önemi vardır. Bu canlılık ara konağın türü ve yaşı, coğrafik bölge ile parazit suşu gibi çeşitli faktörlere göre değişiklik göstermektedir (2, 3). Kistlere karşı in vitro ve in vivo yapılmış çok sayıda skolosidal ajan/ilaç deneme çalışmaları vardır (4-8). Bu tip skolosidal madde denemelerine yönelik çalışmalarda canlılık (viabilite) oranının belirlenmesi çok önemlidir. Canlılık testlerinde protoskoleksin kontraktilesi ve alev hücrelerinin (flame cell) motilitesinin belirlenmesi yanında çeşitli vital/avital karakterli boyama yöntemleri de kullanılmaktadır. Protoskolekslerin canlılık oranlarını saptamak amacıyla neutral red, methylene blue, eosin, Papanicolao, Giemsa, Ziehl-Neelsen, toluidine blue ve trypan blue gibi çeşitli vital ve avital boyalar kullanılmaktadır (9, 10). Skolosidal madde çalışmaları ve diğer literatürler araştırılmış, canlılık testlerinde

en sık kullanılanın tekniğın eozin boyama olduğu saptanmıştır (8, 11, 12). Ancak canlılık çalışmalarında kullanılan eozinin tercih edilen konsantrasyonları arasında % 0,01 ile % 5 arasında değişen belirgin farklar olduğu gözlenmiştir (6, 7, 11, 13-15).

Bu çalışma ile fertil kistlerde canlılık oranını saptamak amacı ile yaygın olarak kullanılan eozinin değişik konsantrasyonlarının boyama kalitesi ve canlılığın ortaya konması açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada Malatya merkez ve ilçelerinde bulunan mezbahalarda, kesim sonrası enfekte olduğu saptanan koyunlara ait karaciğer örnekleri kullanılmıştır. *E. granulosus* protoskoleksleri, bu doğal enfekte koyunların karaciğer hidatik kistlerinden steril enjektörle çekilen kist sıvısından elde edilmiştir. Kist sıvısı steril deney tüplerine aktarılmış ve 1- 2 saat kadar bekletilerek hidatik kum çökeltisi elde edilmiştir.

Eozinin % 0.05, % 0.1, % 1, % 3 ve % 5'lik solüsyonları salin (%0.85 tuzlu su) içinde hazırlanmıştır. Protoskoleksler eozinin değişik konsantrasyonları ile değişen sürelerde muamele edilmiştir. Diğer taraftan, yalnızca kist sıvısı ve distile su içeren bir deney tüpü

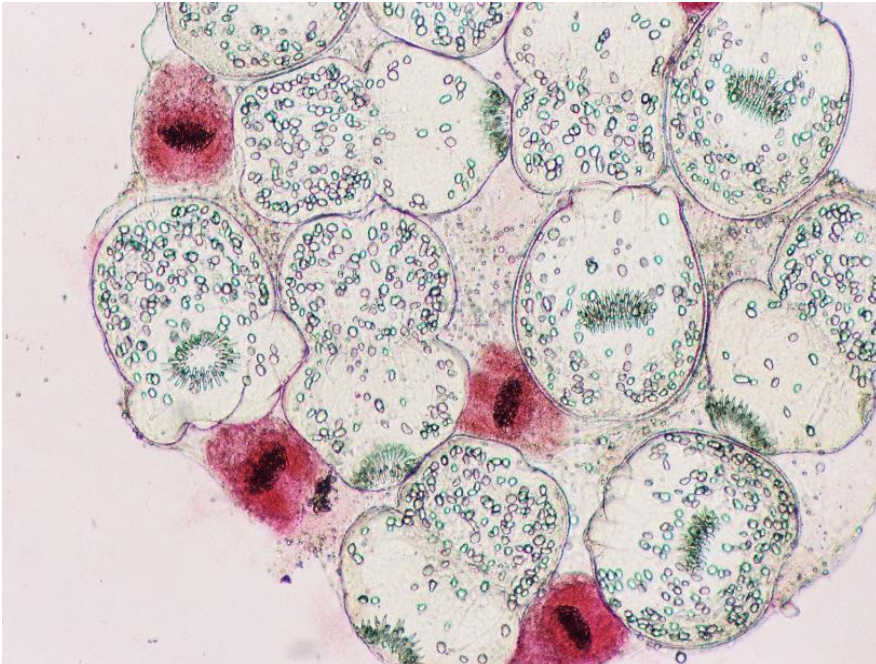
hazırlanmış ve bu preparasyon ise kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Her bir konsantrasyondaki boyama yöntemi ile 500 protoskoleks canlılık yönünden ışık mikroskobu altında incelenerek boyanma kalitesi açısından değerlendirilmiştir.

Tüplerdeki karışımlarda protoskolekslerin 0. 10. 30. 45. ve 60. dakikalardaki canlılıkları, eozinin hazırlanmış olan değişik konsantrasyonları ile kontrol edilmiştir. Protoskoleks kontraktilesinin ve alev hücre motilitesinin kaybolması gibi subjektif bulguların yanında protoskolekslerin elipsoid şekillerini kaybederek yuvarlaklaştığı, vakuoler dejenerasyon oluştuğu ve içlerine eozin aldığı gözlemlendiğinde canlılıklarını kaybettiklerine karar verilmiştir. Mikroskop alanındaki canlı protoskoleksler sayılarak canlılıkları yüzde olarak kaydedilmiştir.

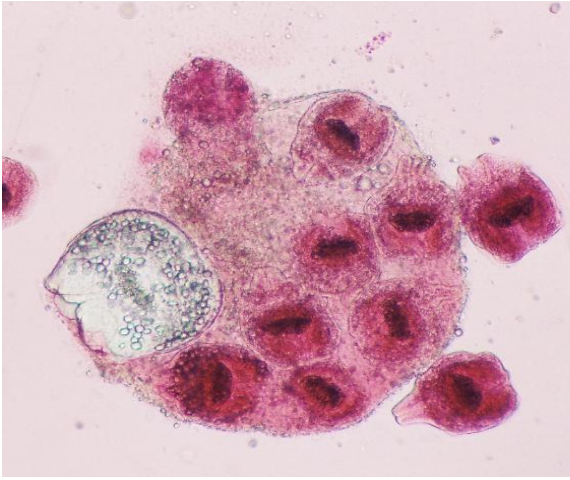
BULGULAR

Çalışmanın 0. dakikasında alanlarda çok az sayıda deforme ve canlılığını yitirmiş protoskolekslerin

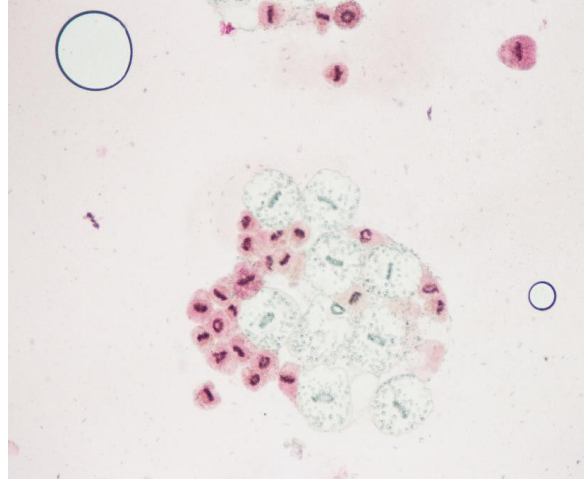
bulunduğu, % 95 oranında canlılıklarını korudukları belirlenmiştir (Şekil 1). Ortamda çokça invajine protoskoleks az oranda da veziküler tip protoskoleksler izlenmiştir. Canlılık oranlarının eozinin % 0.05, % 0.1, % 1, % 3 ve % 5'lik konsantrasyonlarına göre sırasıyla % 100, % 95, % 85-80, % 60 ve % 60 olduğu saptanmıştır. Canlılık testinde bire bir oranda kullanılan boya miktarı (damla sayısı) arttırıldığında ise son iki konsantrasyonun, zeminin koyu boyanması sonucu alev hücrelerinin motil ve protoskolekslerin kontraktil olmasına rağmen boyalı izlenimi vermesi dolayısıyla canlılık kararına varmayı olumsuz etkilediği izlenmiştir. 30. dakika gözlemlerinde canlılık sırasıyla % 95, % 85, % 80, % 40, % 40 olarak bulunmuştur (Şekil 2). 60. dakika sonunda incelendiklerinde ise canlılığın sırasıyla % 80, % 40, % 40, % 20 ve % 20 olduğu saptanmıştır (Şekil 3-6). Ayrıca ortamda invajine protoskoleks ile veziküler tip protoskolekse rastlanma oranının tersine döndüğü ve bunlara posterior kesesi olmayan evajine protoskoleks yapılarının eşlik ettiği gözlenmiştir. Protoskolekslerin hiç kontraktilite ve



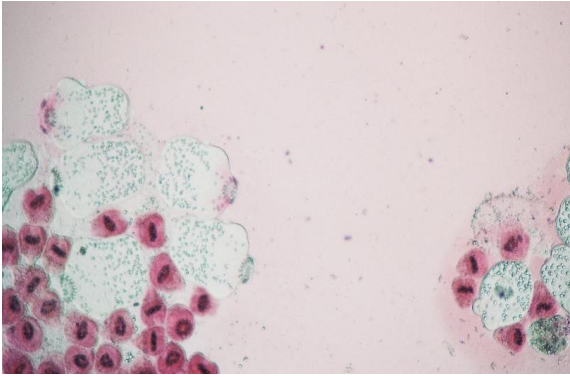
Şekil 1. %1'lik eozin ile 0. dakikada protoskolekslerin görünümü. (%85 viabilite) (x40) Ortamda çokça invajine protoskoleks az oranda da veziküler tip protoskoleksler izlenmiştir. Çengeller ve kalkerli cisimcikler çok belirgin olarak görülmekte, ancak çekmenler o kadar belirgin görülmemektedir.



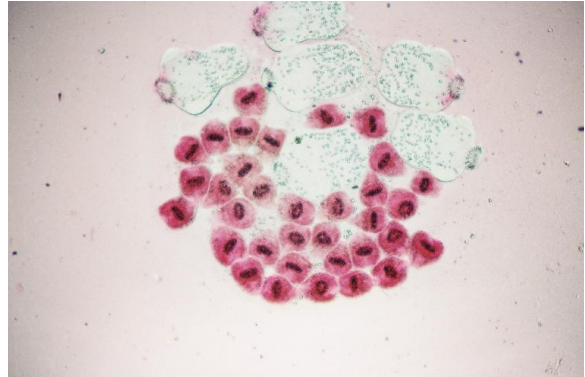
Şekil 2. 30. dakikada % 3 eozin ile protoskolekslerin görünümü. (% 40 viabilite) (x40)



Şekil 3. % 0.05'lik eozin ile protoskoleksler 60. dakikada (x20)



Şekil 4. % 0.1'lik eozinle 60. dakika (% 40 viabilite) (x20)



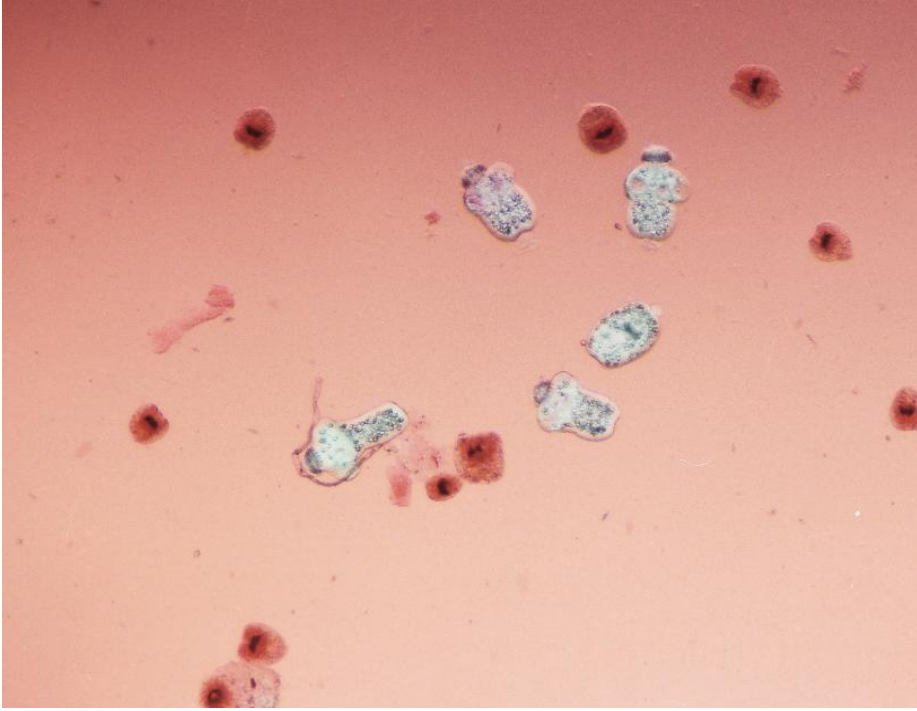
Şekil 5. % 1'lik eozinle 60. dakika (% 40 viabilite) (x20)

alev hücre motilitesi göstermemelerine rağmen % 0.05'lik konsantrasyondaki eozin ile miktar arttırılmış olsa da hiç boyanmamış olmalarının hatalı canlılık kararına yol açtığı saptanmıştır.

TARTIŞMA

Kistik ekinokokkozis prevalansı ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmasına karşın hidatik kistlerin fertilitate ve canlılık oranları üzerine yapılan çalışmaların oldukça sınırlı olduğu görülmektedir. Yıldız ve

Gürcan (16) çalışmalarında, kist hidatikli koyunlarda fertilitate oranını karaciğer ve akciğerdeki kistler için sırasıyla % 81,5 ve % 76,5 olarak kaydetmişlerdir. Bizim çalışmamızda koyun karaciğer kistlerinden faydalanılmış ve açılan tüm kistlerin fertil olduğu gözlenmiştir. Farkın, kistlerin elde edildiği hayvanın yaşından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Çünkü yapılan çalışmalarla genç koyunlarda hidatik kistlerin fertilitate oranının düşük (% 10) olduğu, yaşla beraber fertilitate oranının % 97,14'lere kadar yükseldiği rapor edilmiştir (17, 18).



Şekil 6. % 5'lik eozin ile evajine protoskoleksler 60. dakikada(x10).

Fertil kistlerde skolosidal madde denemelerine yönelik çalışmalarda canlılık oranının belirlenmesi çok önemlidir. Bu amaçla değişik canlılık kriterleri kullanılmakla birlikte daha sıklıkla kullanılan yöntem boyalardır (9, 10). Bu boyama yöntemlerinden trypan blue, methylen blue ve eosin boyamanın canlılık tayininde benzer sonuçlar verdikleri, aralarındaki farklılığın istatistiksel açıdan önemsiz olduğu bildirilmiştir (19).

Canlılık testlerinin yapıldığı birçok çalışmada ise kolay hazırlanabilirliği ve toksisitesinin de az olmasından dolayı eosin boyamanın seçildiği bilinmektedir (6,7,11,12). Ancak canlılık çalışmalarında kullanılan eosinin tercih edilen konsantrasyonları arasında % 0,01 ile % 5 arasında değişen belirgin farklar olduğu gözlenmiştir. Kayaalp (6) % 0.01'lik; Ertabaklar (7), Esmе (11), Özçelik (20), Diker (21)

ve Besim (13) % 0.1'lik; Çiftçi (14) % 1'lik; Tsimoyiannis ve arkadaşları (15) ise % 5'lik eosin konsantrasyonları ile çalışmışlardır. Canlılık çalışmalarında kullanılan eosinin standardize bir konsantrasyonda kullanılmayışından doğabilecek olası hataların bertaraf edilebilmesi için en doğru konsantrasyonun tespit edilebilmesi amacı ile bu çalışma planlanmıştır. Çalışmamızda literatürde rastlanan % 0.01 - % 5 aralığındaki eosin konsantrasyonları kullanılmıştır. Ayrıca en çok çalışılan % 0.1'lik konsantrasyon yarısı kadar daha seyreltilerek çalışmaya alınmıştır.

Bu deneysel çalışma sonucunda ideal boya kalitesi ve doğru canlılık kararlarının verilebilmesi için % 0.1 ve % 1'lik eosin konsantrasyonların seçilmesinin ve bire bir oranlarda kullanılmasının uygun olacağı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Bogitsh BJ, Carter CE, Oeltmann TN. Human Parasitology. Third edition, USA, 2005; 288-96.
2. Dalimi A, Motamedi GH, Hosseini M, Mohammadian B, Malaki H, Ghamari Z, Ghaffari Far F. Echinococcosis / Hydatidosis in Western Iran. Vet Parazitol, 2002; 105: 161-7.
3. Khan AH, El-Buni AA, Ali MY. Fertiity of te cysts of *Echinococcus granulosus* in domestic herbivores from Benghazi, Libya, and the reactivity of antigens produced from them. Ann Trop Med Parasitol, 2001; 95: 337-42.
4. Perez-Serano J, Casado N, Denegri G, Rodriguez-Caabeiro F. The effects of albendazole and albendazole sulphoxide combnation-therapy on *Echinococcus granulosus* in vitro. Int J Parasitol, 1994; 24: 219-24.
5. Walker M, Rossignol JF, Torgerson P, Hempbill A. In vitro effects of nitazoxanide on *Echinococcus granulosus* protoscoleces and metacestodes. J Antimicrob Chemother, 2004; 54: 609-16.
6. Kayaalp C, Balkan M, Aydın C, Özgürtaş T, et all. Hypertonik saline in hydatid disease. World J Surg, 2001; 25: 975-9.
7. Ertabaklar H, Altıntaş N. In vitro efficacies of albendazole and mebendazole against miniature cysts of *Echinococcus granulosus*. Türkiye Parazitol Derg, 2002; 26 (4): 396-9.
8. Hokelek M, Erzurulu K, Uyar Y, Birinci A. The effect of praziquanel as ascolicidal agent on the protoscolices of *Echinococcus granulosus*. Turk Hij Den Biol Derg, 1999; 56: 129-34.
9. Freshney R. Culture of Animal Cells: A Manuel of Basic Technique, Alan R. Liss, Inc., New York, 1987; 117.
10. Gori S, Campatelli A, Luchi S, Paladini A, Savalli E, Scasso A. Cytology in the percutaneous treatment of hydatid cysts. A report of four cases. Acta Cytol, 1993; 37(3): 423-6.
11. Esmé H, Çiftçi İH, Solak O, Dilek ON. Akciğer hidatik kistlerinde usnik asit, betadine, savlosol ve desderman'ın protoskolekler üzerine germisid etkinliğinin araştırılması. Türkiye Parazitol Derg, 2007; 31 (2): 101-4.
12. Hökelek M, Uyar Y, Erzurumlu K. *Echinococcus granulosus* protoskoleks viabiliteleri üzerine albendazol sülfoksit solüsyonunun etkinliğinin araştırılması. Türkiye Parazitol Derg, 2001; 25(1): 41-4.
13. Besim H, Karayalçın K, Hamamcı O, Güngör C, Korkmaz A. Scolicidal agents in hydatid cyst surgery. HPB Surg, 1998; 10(6): 347-51.
14. Ciftci İH, Esmé H, Sahin DA, Solak O, Sezer M, Dilek ON. Effect of octenidine dihydrochloride on viability of protoscoleces in hepatic and pulmonary hydatid diseases. J Natl Med Assoc, 2007; 99(6): 674-7.
15. Tsimoyiannis EC, Siakas P, Glantzounis G, Tsimoyiannis JC, Karayianni M, Gossios KJ. Intracystic pressure and viability in hydatid disease of the liver. Int Surg, 2000; 85(3): 234-6.
16. Yıldız K, Gürcan S. Prevalence og hydatidosis and fertility of hydatid cysts in sheep in Kırkkale, Turkey. Acta Vet Hung, 2003; 51: 181-7.
17. Güralp N, Doğru C. Ankara mezbahasında kesilen değişik yaşlardaki koyun ve sığırların organlarında görülen ekinokok kistlerinin fertilité durumları. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 1971; 18: 195-205.
18. Şenlik B. Bursa yöresi koyunlarında hidatidoz'un yaygınlığı ve yaş, ırk, cinsiyet ile ilişkisi. Türkiye Parazitol Derg, 2000; 24: 304-8.
19. Yıldırım A, İça A, Düzlü Ö, İnci A. Kistik echinococcosisde canlılık tayininde kullanılan çeşitli boyama yöntemlerinin istatistiksel analizi. Türkiye Parazitol Derg, 2007; 31(2): 105-8.
20. Özçelik S, Sümer Z, Değertli S, Ozan F, Sökmen A. Sarımsak (*Allium sativum*) özütü skolisidal ajan olarak kullanılabilir mi? Türkiye Parazitol Derg, 2007; 31(4): 318-21.
21. Diker AI, Tinar R, Senlik B. Viability of *Echinococcus granulosus* protoscolices at different conditions. Vet Parasitol, 2007; 150(1-2): 84-7.

TRABZON GÖĞÜS HASTALIKLARI HASTANESİ ÇALIŞANLARINDA HBV, HCV VE HIV SEROPREVALANSI*

Seroprevalances of HBV, HCV and HIV Among Healthcare Workers of Trabzon Chest Diseases Hospital

Yelda YAZICI¹, Nagihan DEMİR¹, Halit ÇINARKA¹, Hülya YILMAZ¹, Nedime ALTINTAŞ¹

¹Trabzon Göğüs Hastalıkları Hastanesi, TRABZON

Geliş Tarihi: 26.04.2010
Kabul Tarihi: 12.05.2010

İletişim:
Yelda YAZICI
Ahi Evren Göğüs Kalp ve Damar
Cerrahisi Eğitim ve Araştırma
Hastanesi,
Mikrobiyoloji Laboratuvarı,
TRABZON
Tel : +90 462 231 04 67
E-posta : yeldahas@yahoo.com

ÖZET

Amaç: Sağlık çalışanları kan ve vücut sıvılarıyla karşılaşmalarından dolayı enfekte olma riski altındadırlar. Bu çalışmada, Trabzon Göğüs Hastalıkları Hastanesi'nde 2006-2008 yıllarında çalışmakta olan 327 sağlık personelinde hepatit B virusu (HBV), hepatit C virusu (HCV) ve insan immünyetmezlik virusu (HIV) seroprevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada 2006-2008 yılları arasında hastane personelinin sağlık taraması amacıyla oluşturulan bilgi formları retrospektif olarak incelenmiştir. Bilgi formlarındaki hepatit B yüzey antijeni (HBsAg), hepatit B yüzey antikoru (anti HBs), HCV antikoru (anti HCV) ve HIV antikoru (anti HIV) sonuçları değerlendirmeye alınmıştır.

Bulgular: HBV'ye ait serolojik göstergeler değerlendirildiğinde 135 (%41.3) personelin aşısız, 135 (%41.3)'nin aşı, 49 (%15)'nin doğal bağışık ve 8 (%2.4)'inin de taşıyıcı olduğu saptanmıştır. HBV seronegatif olan sağlık çalışanları hepatit B aşı programına alınmıştır. Hastane çalışanlarında anti HIV pozitifliği saptanmazken, 3 (%0.9)'ünde anti HCV titresi pozitif olarak tespit edilmiştir.

Sonuç: HBV, HCV ve HIV tarama testleri sağlık çalışanlarında yapılarak serolojik durumları tanımlanmalıdır. Özellikle HBV için aşılama, bağışıklığı olmayan personelde korunma için önemlidir.

Anahtar Sözcükler: Sağlık çalışanları, HBV, HCV, HIV, prevalans

ABSTRACT

Objective: Healthcare workers are at risk of infection due to exposure to blood and other body fluids. In this study, it was aimed to determine seroprevalence of hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV) and human immunodeficiency virus (HIV) in 327 healthcare workers of Trabzon Chest Diseases (TCD) Hospital between the years 2006 and 2008.

Method: In the study, personnel information forms of the TCD hospital created for the purpose of health screening between the years 2006 to 2008 were evaluated retrospectively. Results for hepatitis B surface antigen (HBsAg), hepatitis B surface antibody (anti HBs), HCV antibody (anti HCV) and HIV antibody (anti HIV) at the form were evaluated.

Results: Evaluation of the serological markers of hepatitis B virus showed that 135 (41.3%) of healthcare workers were not vaccinated, 135 (41.3%) of them were vaccinated, 49 (15%) of them were naturally immune, and 8 (2.4%) of them were carrier. All of the seronegative healthcare workers for HBV were included to a hepatitis B immunization program. All hospital workers were found negative for anti HIV and 3 (0.9%) of them were identified as positive for anti HCV.

* Bu çalışma 2009 yılı III. Uluslararası Hasta Güvenliği Kongresi'nde poster olarak tebliğ edilmiştir.

Conclusion: HBV, HCV and HIV screening tests should be performed among all health care workers at risk, and their current infection status should be identified. Particularly, HBV vaccination is important to protect non-immune personnel .

Key Words: Healthcare workers, HBV, HCV, HIV, prevalence

GİRİŞ

Sağlık çalışanları kan ve vücut sıvılarıyla karşılaşmalarından dolayı HBV, HCV ve HIV gibi enfeksiyon ajanlarıyla enfekte olma riski altındadırlar. HBV enfeksiyonu tüm dünyada yaygın olarak görülmekte olup HBsAg pozitifliği %0,1-20 olarak bildirilmiştir. Türkiye genelinde yapılan taramalarda HBsAg seroprevalansı %1,7-21 olarak bulunmuştur (1). HBV enfeksiyonu ülkemizde karaciğer hastalıklarının en önemli nedenlerinden biridir. HBV'ye bağlı gelişen akut hepatit, kronik hepatit, karaciğer sirozu ve hepatoselüler kanser gibi tablolar, tıbbi-cerrahi tedavileri ve ciddi komplikasyonları ile tıbbin birçok alanını ilgilendiren ve sağlık sorunları arasında önemli yer tutan bir hastalık grubunu oluşturur (2).

HCV prevalansının HBV'den daha düşük olduğu bilinmektedir. Ülkemizde HCV enfeksiyonları, sporadik olgular olarak bildirilmektedir. Dünyada HCV enfeksiyonunun ortalama sıklığı %3 civarında iken, Türkiye'de %1-2.4 arasında değişmekte ve kan donörlerindeki oranlar %1'i geçmemektedir (1). Prevalansı düşük olmasına rağmen HCV enfeksiyonu, hepatit B enfeksiyonuna nazaran çok daha yüksek oranda kronikleşmektedir ve ülkemizde kronik karaciğer hastalıklarının nedenleri arasında önemli bir yere sahiptir (2).

HIV virüsü genellikle sağlıklı taşıyıcılar tarafından bulaştırılmaktadır. Ülkemizde bildiri yapılmış 3000'e yakın, tahminen de 10.000 - 20.000 HIV ile enfekte kişi olduğu düşünülmektedir. HIV enfeksiyonunda en önemli bulaş yollarından birisinin kan ve kan ürünleri olması ve HIV ile enfekte kişilerin sayılarının artmasından dolayı sağlık çalışanları önemli bir mesleki risk altındadır (3).

HBV, HCV ve HIV virüslerinin bulaşı parenteral yol başta olmak üzere, mukoza ve deride gözle görülmeyen çatlaklar ile de olabilmektedir (4).

Bu çalışmada hastanemiz çalışanlarının HBV, HCV ve HIV seropozitiflik oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamıza Trabzon Göğüs Hastalıkları Hastanesi'nde 2006-2008 yılları arasında çalışmakta olan 327 personele ait veriler alınmıştır. Hastane çalışanlarının sosyodemografik özelliklerini, hepatit geçirme öyküsü, aşılama durumunu da içeren tıbbi bilgileri ve tetkik sonuçlarını gösteren bilgi formları geriye yönelik olarak taranmış ve HBs Ag, anti HBs, anti HCV ve anti HIV seropozitiflikleri incelenmiştir. Bilgi formlarındaki bilgilere göre aşı olmamış ve anti HBs titresi pozitif olan sağlık çalışanları doğal bağışık olarak kabul edilmiştir. Tarama bilgilerinde anti HBc total verileri bulunmayıp, daha önceden aşı yaptırdıklarını bildiren ve anti HBs titresi pozitif olan personel aşılı bağışık olarak kabul edilmiştir. Çalışma için personelden tekrar serum örneği alınmamıştır. Anti HCV titresi pozitif bulunan personel daha önce tanısını almış ve düzenli takip edilen HCV pozitif kişilerdir. Taramalardaki test sonuçları hastanemiz laboratuvarında kemiluminesans immünasay yöntemi (Vitros ECİ Q, Ortho Clinical Diagnostics, Germany) ile çalışılmış sonuçlardır.

BULGULAR

Üçyüzyirmiyedi sağlık personelinin 193 (%59.2)'ü kadın, 133(%40.8)'ü erkek olup, yaş ortalaması 34.12 ± 8.65 olarak tespit edilmiştir.

Hastane personelinin meslek dağılımı incelendiğinde 16 (%4.9)'sı doktor, 80 (%24.5)'i hemşire, 43 (13.2)'ü teknisyen (laboratuvar/röntgen), 59 (%18.0)'u temizlik personeli, 13 (%3.9)'ü hizmetli, 34 (%10.4)'ü tıbbi sekreter, 22 (%6.7)'si memur, 60 (%18.4)'ü diğer görevlerde çalışan personeldir (Tablo 1). Diğer olarak tanımlanan grubun çoğunluğunu hasta ile direkt teması olmayan güvenlik görevlileri, mutfak personeli, şoförler, bilgi işlem birimi ve teknik bakım personeli oluşturmaktadır.

Hepatit B virusu açısından yapılan tarama sonuçları değerlendirildiğinde 135 (%41.3) personelin aşısız, 135 (%41.3)'nin aşı, 49 (%15.0)'nun doğal bağışık ve 8 (%2.4)'inin de taşıyıcı olduğu saptanmıştır (Tablo 2). Anti HBs seropozitifliklerinin mesleklere göre dağılımı Tablo 3'de gösterilmiştir.

Sağlık çalışanlarında anti HIV pozitifliği saptanmazken, üçünde (%0.9) anti HCV titresi pozitif olarak tespit edilmiştir (Tablo 2).

Tablo 1. Trabzon Göğüs Hastalıkları Hastanesi'nde 2006-2008 yılları arasında sağlık çalışanlarının dağılımı ve HBsAg, Anti HBS ve Anti HCV seropozitiflik oranları.

Meslek	Personel Sayısı n (%)	HBs Ag n (%)	Anti HBs n (%)	Anti HCV n (%)
Doktor	16 (4.9)	-	14 (87.5)	-
Hemşire	80 (24.5)	1 (1.3)	65 (81.3)	2 (2.5)
Sağlık teknisyeni*	43 (13.2)	-	30 (69.8)	-
Temizlik personeli	59 (18.0)	1 (1.7)	22 (37.3)	1 (1.7)
Hizmetli	13 (3.9)	2 (15.4)	6 (46.2)	-
Tıbbi sekreter	34 (10.4)	1 (2.9)	11 (32.4)	-
Memur	22 (6.7)	1 (4.5)	13 (59.1)	-
Diğer**	60 (18.4)	2 (3.3)	23 (38.3)	-
TOPLAM	327 (100)	8 (2.4)	184 (56.3)	3 (0.9)

* Sağlık teknisyeni: Laboratuvar ve röntgen teknisyeni

** Diğer: Güvenlik görevlileri, mutfak personeli, şoförler, bilgi işlem birimi ve teknik bakım personeli

Tablo 2. 2006-2008 yılları arasında Trabzon Göğüs Hastalıkları Hastanesi'nde sağlık çalışanlarında HBV ve HCV oranları.

HBV tarama sonuçları	n (%)
Aşısız	135 (41.3)
Aşı	135 (41.3)
Doğal bağışık	49 (15.0)
Taşıyıcı	8 (2.4)
Anti HCV tarama sonuçları	n (%)
Pozitif	3 (0.9)
Negatif	324 (99.1)
Toplam	327(100)

Tablo 3. Trabzon Göğüs Hastalıkları Hastanesi'nde 2006-2008 yılları arasında HBV'ye karşı saptanan bağışıklığın mesleklere göre dağılımı

Meslek	Doğal bağışık		Aşı bağışık		Bağışık olmayan	
	N	%	N	%	N	%
Doktor (n=16)	-	-	14	87.5	2	12.5
Hemşire (n=80)	18	22.5	47	58.8	15	18.7
Sağlık teknisyeni (n=43)	5	11.6	25	58.2	13	30.2
Temizlik personeli (n=59)	9	15.3	13	22.0	37	62.7
Hizmetli (n=13)	2	15.4	4	30.8	7	53.8
Tıbbi sekreter (n=34)	6	17.6	5	14.7	23	67.7
Memur (n=22)	2	9.1	11	50.0	9	40.9
Diğer (n=60)	7	11.6	16	26.7	37	61.7
Toplam (n=327)	49	15.0	135	41.3	143	43.7

TARTIŞMA

Sağlık personeli risk grubu olmasından dolayı, ülkemizde HBV enfeksiyonu seroprevalansının en çok araştırıldığı olgular içerisinde yer almaktadır. Bu grupta yapılan birçok çalışmada ortalama %1.9-15.6 HBsAg pozitifliği ve %11.4-56.0 anti HBs pozitifliği bulunmuştur. Akut HBV enfeksiyonunun %5'inin kronikleştiği ve önemli bir bölümünün siroza dönüştüğü; sirozlu olgularda da hepatoselüler kanser gelişme riskinin yüksek olduğu göz önünde bulundurulursa sağlık çalışanlarının bu enfeksiyon riskinden korunmasının önemi daha iyi anlaşılacaktır (5, 6). Dünya Sağlık Örgütü, 1992 yılında hepatit B'yi sağlık personeli için "meslek hastalığı" olarak kabul etmiştir. T.C. Sağlık Bakanlığı ise 1996 yılında sağlık çalışanlarının taranmasını ve uygun olan kişilerin aşılamasını başlatmıştır (5).

Ülkemizde sağlık çalışanlarındaki HBsAg ve anti HBs pozitifliklerini 2000 yılı ve öncesinde yapılan çalışmalarda sırasıyla Karslıgil ve ark.(7) %5.41, %35.14; Yaylı ve ark.(4) %5, %35 olarak bulurken; son yıllarda yapılan çalışmalarda HBsAg ve anti HBs pozitifliklerini sırasıyla; İnci ve ark. (8) %1, %62.7; Öksüz ve ark. (9) %1.7, %75.7; Demir ve ark. (10) %3, %78.3; Aşkar (2) %1.69, %73; Ersöz ve ark.(11) %2.1, %61.7 olarak saptamışlardır. Trabzon'da 2007 yılında kan donörlerinde yapılan bir çalışmada HBsAg pozitifliği %1.6 olarak bulunmuştur (12). Çalışmamızda da HBsAg pozitifliği %2.4 olarak bulunmuş olup diğer araştırmacılarca bulunan sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Türkiye genelinde yapılan taramalarda HBsAg seroprevalansının %1.7-21 arasında olduğu düşünülürse oranlarımızın düşük olduğu gözlenmektedir (1). Son yıllarda riskli gruplarda aşılama oranlarının artması, sağlık birimlerinde enfeksiyon kontrol önlemlerinin, sterilizasyon ve dezenfeksiyon işlemlerinin daha yoğun uygulanması ve ayrıca hizmet içi eğitimlerin daha düzenli olarak ve sık tekrarlanması gibi faktörlerden dolayı HBsAg

seroprevalansını düşük oranda saptamamıza neden olmuş olabilir. Çalışmamızda anti HBs pozitifliği de %56.3 olarak bulunmuş ve bu oranın diğer çalışmalara göre düşük olduğu saptanmıştır.

İnci ve ark. (8) doktorlarda HBV için aşılama oranlarını %80, ebe-hemşirelerde %54.2 olarak bulurken, Demir ve ark.(10) bu oranları sırasıyla %55.8 ve %57.5 olarak tespit etmişlerdir. İnan ve ark.nın yaptıkları çalışmada ise hekimlerin aşılama oranları %74, hemşirelerin ise % 53 olarak bildirilmiştir (13). Çalışmamızda doktorlardaki aşılama oranı %87.5, hemşirelerde %58.8, teknisyenlerde %58.2 olarak bulunmuştur. Bu üç meslek grubu aşılama oranlarının en yüksek olduğu gruplardır. Çalışma esnasında sağlık çalışanlarının tarama verilerinde anti HBC total bilgileri sorgulanmadığından aşılı bağışık olarak kabul edilen grubun içerisinde daha önceden hepatit B enfeksiyonunu geçirip doğal bağışıklığa sahip personel de olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle ilerdeki çalışmalarımızda daha belirleyici sonuçlara ulaşabilmek için anti HBC total titresine bakılmasının da gerektiğini düşünmekteyiz.

Ülkemizde 1990'lı yıllarda sağlık personelinde anti HCV pozitifliğinin araştırıldığı çeşitli çalışmalarda bu oranı Badur ve ark. (14) %1.6, Elçi ve ark. (15) %2, Yaylı ve ark. (4) %0.17 olarak bulurken, son yıllarda yapılan çalışmalarda Öksüz ve ark. (9) % 0.2, İnci ve ark. (8) %0.34, Aşkar (2) %0.15, Ersöz ve ark. (11) %0.4 olarak saptamışlardır. Türkiye'deki kan donörlerinde de %1 oranında anti HCV pozitifliği olduğu bildirilmiştir (1). Çalışmamızda bulunan %0.9 oranının diğer çalışmalarla uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

HBV açısından seronegatif olan çalışanlar hastanemiz enfeksiyon kontrol komitesi ekibi tarafından aşı programına alınırken, titresini 100 IU/L altında olanlara ise tek doz aşı uygulaması yapılmıştır. Hepatit B taşıyıcıları ve anti HCV pozitif olanlar altı

ay ara ile karaciğer enzimleri, alfa-fetoprotein düzeyi ve batin ultrasonografileri yapılarak düzenli takibe alınırken, çalıştığı birimler hastalara yoğun invaziv girişimlerin yapıldığı yerler olmadığından çalıştığı yerlerle ilgili herhangi bir değişikliğe gidilmemiştir.

Tüm perkütan yaralanmaların %95'i iğne batması, %3.6'sı bistüriyle kesi sonucu meydana gelmektedir. Enfekte hastanın kanıyla bir kez perkütan yoldan karşı karşıya kalış sonrası HBV, HCV ve HIV bulaşma riski sırasıyla %6-30, %3.5-10 ve %0.18-0.46 arasında değişmektedir (16). Bu oranlar dikkate alındığında sağlık çalışanlarının enfeksiyon kontrol önlemlerine uymalarının hem kendilerini hem diğer sağlık çalışanlarını hem de hastalarını korumak açısından ne kadar önemli olduğu ortaya çıkmaktadır. Uygulanması gereken standart önlemler dışında bazı mikroorganizmalara karşı alınması gereken özel önlemler de vardır. Kan ve diğer vücut sıvılarının sıçrama ihtimali bulunan durumlarda maske ve gözlük takılmalı, önlük giyilmelidir. Girişimlerde kullanılan kesici ve delici aletler tek kullanımlık

olmalı, yaralanmamaya özen gösterilmeli ve bu aletlere çıplak elle dokunulmamalıdır. Kazaların en sık enjektörlerin kapağının tekrar takılması sırasında olması nedeniyle enjektörler kapağı takılmadan, tıbbi atık kutusuna atılmalıdır (17, 18). İnan ve ark. iğne batmasının hemşirelerden sonra ikinci sıklıkla temizlik personeline görüldüğünü ve bu durumun çoğunlukla çöp toplarken meydana geldiğini bildirmişlerdir (13). Bu nedenle iğne uçlarının, delici ve kesici aletlerin çöpleri taşıyan personele batmaması için normal tıbbi atık poşetlerine değil özel tıbbi atık kutularına atılması sağlanmalıdır.

Sonuç olarak, hastanede çalışan personelin öncelikli olarak korunma yöntemlerini uygulaması yönünde düzenli olarak eğitimler verilmesi, çalışılan ortamın riskleri göz önüne alınarak, hastaneye yeni başlayacak personelin işe giriş esnasında tarama tetkiklerinin yapılarak mevcut durumlarının tespiti, aşılı olmayanların aşılması, taşıyıcı olanların rutin takiplerinin yapılmasının hasta ve çalışan güvenliği açısından önemli olduğu kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Sünbül M. HCV enfeksiyonunun epidemiyolojisi ve korunma. Tabak F, Balık İ, Tekeli E (editörler). Viral Hepatit 2007. 1. Baskı. İstanbul: Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 2007: 208-19.
2. Aşkar E. Sağlık çalışanlarında hepatit B ve hepatit C seroprevalansı. Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul: 2006.
3. Tabak F. HIV enfeksiyonu ve kronik hepatitler. Tabak F, Balık İ, Tekeli E (editörler). Viral Hepatit 2007. 1. Baskı. İstanbul: Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 2007: 384-8.
4. Yaylı G, Benzonana NA, Çamursoy N, Dereli Y, Ünel N, Özer S. Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi çalışanlarında HBV, HCV, HIV serolojik göstergeleri. Klimik Derg, 1994; 7(2): 82-4.
5. Özdemir D, Kurt H. Hepatit B virusu enfeksiyonlarının epidemiyolojisi. Tabak F, Tekeli E, Balık İ (editörler). Viral Hepatit 2007. 1. Baskı. İstanbul: Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 2007: 108-17.
6. Taşyaran MA. HBV İnfeksiyonunu epidemiyolojisi. Tekeli E, Balık İ (editörler). Viral Hepatit 2003. 1. Baskı. İstanbul: Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 2003: 121-8.
7. Karslıgil T, Uygur O. Sağlık personeli ve toplumda hepatit B virusüne karşı oluşan doğal bağışıklık ve immünizasyonla gelişen antikor düzeylerinin araştırılması. Gaziantep Üniversitesi Tıp Dergisi, 2007; 1: 31-4.
8. İnci M, Aksebzeci AT, Yağmur G, Kartal B, Emiroğlu M, Erdem Y. Hastane çalışanlarında HBV, HCV ve HIV seropozitifliğinin araştırılması. Türk Hij Den Biyol Derg, 2009; 66 (2): 59-66.

9. Öksüz Ş, Yıldırım M, Özyayın Ç, Şahin İ, Arabacı H, Gemicı G. Bir devlet hastanesi sağlık çalışanlarında HBV ve HCV seroprevalansının araştırılması. ANKEM Derg, 2009; 23(1): 30-3.
10. Demir İ, Kaya S, Demirci M, Cicioğlu-Arıdoğan B. Isparta ili sağlık personelinde hepatit B virus seropozitifliğinin araştırılması. İnfeksiyon Derg, 2006; 20(3): 183-7.
11. Ersöz G, Şahin E, Kandemir Ö, Kurt Ö, Delialioğlu N, Kaya A, Emekdaş G. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi sağlık personelinde HAV, HBV, HCV seroprevalansı ve hepatit B aşılması. Viral Hepatit Derg, 2006; 11(2): 84-8.
12. Kaya S. Kan donörlerinde hepatit B virusu, hepatit C virusu ve insan immün yetmezlik virusu enfeksiyonu ve sifilis sıklığı. Klimik Dergisi, 2008; 21(2): 65-8.
13. İnan D, Günseren F, Selçuk K, Harman R, Keskin S, Çolak D. Akdeniz Üniversitesi sağlık çalışanlarının kan ve vücut sıvılarıyla mesleki teması. Viral Hepatit Derg, 2005; 10: 109-13.
14. Badur S. Hepatit C virüsü enfeksiyonlarının serolojik tanısı. Klimik Derg 1990; 3(2): 58-62.
15. Elçi S, Gül K, Akpolat ÖN, Anık H, Değertekin H. Diyarbakır'da hastahane personeli, öğrenci ve donörlerde AntiHCV pozitifliği. Viral Hepatit Derg, 1996; 1: 50-2.
16. Güler M, Coşkun T, Kama NA, Reis E, Doğanay M. Kan yoluyla bulaşan viral enfeksiyonlar: sağlık çalışanları için riskler ve koruyucu önlemler. Türkiye Klinikleri J Gastroenterohepatol, 1999; 10: 36-43.
17. Leblebicioğlu H. Sağlık personeli ve AIDS. O.M.Ü. Tıp Dergisi, 1996; 13(4): 281-3.
18. Özaras R. Sağlık çalışanlarının hastane enfeksiyonlarından korunması, İ Ü, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Hastane Enfeksiyonları: Korunma ve Kontrol Sempozyum Dizisi No: 60, 2008; 255-7.

BİTKİ ISLAHINDA MOLEKÜLER BELİRTEÇLERİN KULLANIMI ve GEN AKTARIMI

Application of the Molecular Marker and Gene Transfer in Plant Breeding

Çiğdem VARDAR-KANLİTEPE¹, Sümer ARAS¹, Demet CANSARAN-DUMAN²

¹ Ankara Üniversitesi,
Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,
Tandoğan, ANKARA

² Refik Saydam Hıfzıssıhha
Merkezi Başkanlığı,
İlaç ve Kozmetik Araştırma
Müdürlüğü, ANKARA

Geliş Tarihi: 25.09.2009
Kabul Tarihi: 12.05.2010

İletişim:
Sümer ARAS
Ankara Üniversitesi,
Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü
Tandoğan - ANKARA
Tel : +90 312 212 67 20-1088
E-posta : aras@science.ankara.edu.tr

ÖZET

Tarımsal olarak önemli pek çok tür için moleküler belirteç haritaları oluşturulmuştur. Dünyada bu alanda fazla sayıda kaynak ve potansiyel var olmasına rağmen, henüz belirteç yardımcı seleksiyonla (MAS) gelişen tarım ürünleri için ticari ıslah programlarında beklenen düzeyde yarar sağlanamamaktadır. Bu derlemede, MAS kullanımındaki teknikler ile ilgili genel bilgilerin yanısıra bitki ıslahının hem temel genetik ilkeleri hem de klasik ıslah yöntemlerinden bahsedilmiştir. Ayrıca, bitki ıslahında karşılaşılan sorunlar biyoteknoloji ve genetik mühendislik yöntemleri dikkate alınarak ayrıntılı olarak incelenmiştir. Genetik ıslah aracı olarak belirteç yardımcı seleksiyon kullanımının potansiyel önemi değerlendirilirken bu tekniğin ekonomik maliyeti, yararları, potansiyel zararları da göz önünde bulundurulmalıdır.

Anahtar Sözcükler: Bitki, ıslah, moleküler belirteç

ABSTRACT

Molecular marker maps have been constructed for the majority of agricultural important species. Despite the enormous potential and considerable resources invested in this field in the world, MAS has not yet delivered its expected benefits in commercial breeding programmes for crops development. This study provides an overview related to the techniques in using, MAS and the basic genetic principles of plant breeding and conventional breeding methods were discussed. In addition, the problems encountered of plant breeding by taking into account the biotechnology and genetic engineering methods were examined in detail. When evaluating the potential merits of applying MAS as a tool for genetic improvement, economic cost, benefits and potential hazards of this technique should be considered.

Key Words: Plant, breeding, molecular marker

GİRİŞ

Bitkilerin genetik yapılarındaki ve doğal yayılışlarındaki varyasyonlardan yararlanılarak kalıtım yoluyla istenilen özelliklere sahip yeni bitkiler elde edilmesine 'bitki ıslahı' denir. Son yıllarda, biyoteknoloji ve genetik mühendisliğindeki tekniklerde önemli gelişmelerin olması, farklı canlılar arasında da gen aktarımına olanak sağlamıştır. Böylece insanoğlu tarımda, gıda teknolojisinde, ekolojide yaşamı tehdit eden pek çok sorunun çözülmesini sağlayabilecek anahtarlar 'bitkilere gen aktarımı' yaparak sahip oldular.

Günümüzde tarımla uğraşan çiftçinin zor ve olumsuz koşullarda daha fazla ürün almasına yardımcı olacak tohumların üretimi konusunda araştırmalar yapılmaya başlanmıştır. Yine bitkilerin sıcaklık ve kuraklık stresine karşı geliştirecekleri savunma mekanizmaları üzerinde çok sayıda çalışmalar ortaya konmaya başlanmıştır (1).

Gen aktarımı yapılmış organizmalar dünya ticaretine de girmiştir. İnsanların genel olarak "Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar - GDO" olarak tanıdığı tarımsal ürünler oldukça dikkat çekmekte ve hızla artan dünya nüfusunu doyuracak kaynaklar olarak görülmektedir. 2025 yılında dünya nüfusunun 8 milyar olacağı tahmin edilmektedir. Bu nüfusu besleyebilmek için, gıda üretimi her yıl % 1.2 artmak zorundadır (1).

BİTKİ İSLAH ÇALIŞMALARININ YARARLARI VE RİSKLERİ

1. Potansiyel Yararlar

a. Besin Miktarının Artırılması ve İçeriğinin Zenginleştirilmesi: Özellikle üçüncü dünya ülkelerinde olmak üzere açlık ve kötü beslenme başta gelen halk sağlığı problemlerinden biridir. Besin içeriğini zenginleştirmeye yönelik çalışmalara vitamin A içeriği zenginleştirilmiş pirinç üretimini örnek verebiliriz. Dünya üzerinde okul öncesi dönemdeki

3 milyon kadar çocuğun A vitamini eksikliğinden kaynaklanan görme bozukluğu varken her yıl 250 000 ile 500 000 kadarı kör olmakta bunların da üçte ikisi izleyen birkaç aylık süreçte ölmektedir.

Biyoteknolojik yöntemlerle geliştirilen, A vitamini zenginleştirilmiş pirinç sayesinde özellikle pirincin temel tüketim maddesi olduğu bölgelerde A vitamini eksikliğinin önüne geçilebileceği öngörülmektedir (1).

b. Besinlerin Alerjik Özelliklerinin Azaltılması:

Genelde toplum içinde besin alerjisi olan kişilerin ortalaması yaklaşık olarak %2-8 kadardır. Bu alerjik reaksiyonların büyük bir kısmından sekiz tür besin sorumludur. Bunlar yer fıstığı, yumurta, inek sütü, soya, buğday, kabuklu deniz canlıları, balık ve fındıktır. Besinler içindeki alerjik proteinlerin çıkarılması veya yapısının değiştirilmesi yönündeki çalışmalarla bu besinlerin alerjik özelliklerinin azaltılması hedeflenmektedir (1).

c. Aşı ve İlaç Üretiminde Kullanımı: GDO'lar hem

gıda hem de ilaç olarak etki edecek ürünler halinde tüketilebilirler. Örneğin brokoli, anti-oksidant içeriğini zenginleştirmek için; çay, flavonoidlerle zenginleştirmek için genetik olarak değiştirilebilir. Özellikle olgunlaştığı zaman çiğ olarak tüketilen muz gibi bazı tropikal ürünler; hepatit, kuduz, dizanteri, kolera ve ishal ile gelişmekte olan ülkelerde yaygın olan diğer bağırsak enfeksiyonlarına karşı kullanılabilen proteinleri üretmek için genetik olarak değiştirilebilmektedir. Bu ürünlerin yetiştirildiği ve düşük maliyetle dağıtıldığı ve özellikle aşı üretimi için kaynağın ve tıbbi alt yapının yetersiz olduğu gelişmekte olan ülkelerde çocuklar için faydalı olacaktır (1).

Bazı biyoteknoloji şirketleri tütün gibi bazı bitkileri bile ilaç sentezi için değiştirebilmektedir. Tütün, aynı zamanda insan ve çiftlik hayvanlarında kullanılan antikorları üretmek içinde değiştirilmiştir (1).

d. Çevresel Faydaları: Tarımsal amaçlı bitkilerin çoğunun genetiği değiştirilerek virüsler; böcekler, yabancı otlar, herbisitler, hastalık ve çeşitli çevresel etkenlere karşı direnç kazanabilmeleri sağlanabilir. Örneğin; patates, soya ve mısır gibi bitkisel ürünlerin çoğuna insektisidal (böcek öldürücü) potansiyele sahip *Bacillus thuringiensis*'li bir gen aktararak böceklerle karşı dirençli Bt bitkiler elde edilmiştir (2).

Günümüzde bitkilerin topraktan daha fazla azotu doğrudan kendilerinin alabilmesi için genetiği değiştirilmiş bitki üretimi hızlandırılmıştır. Bu da buharlaşarak veya nehir ağzlarına sürüklenip su kirliliğine neden olarak çevreyi tehdit eden kimyasal gübre gereksinimini azaltacağından çevre için yararlı bir uygulama olacaktır (2).

Genetiği değiştirilmiş bitkiler ya da mikroorganizmalar, çevredeki toksik atıkların uzaklaştırılmasını sağladıkları için bioremediasyon (biyolojik iyileştirme; su kalitesinin zehirli atıklardan uzaklaştırılarak iyileştirilmesi) için de kullanılabilirler (2).

2. Potansiyel Riskler

a. Artmış Alerjik Reaksiyon Riski: Biyoteknolojik yöntemler ile üretilmiş besinler üzerinde en önemli tartışma konularının başında alerjik reaksiyon riskinin artışı gelmektedir. Genetik yapı değişiminde, verici kaynağın alerjen özelliklerinin transfer edilen bitkiye ya da hayvana geçmesi engellenemeyebilir. Bu besinler için ileri sürülen potansiyel alerji riskini üç kategoriye ayırabiliriz:

- i. Bir üründeki bilinen bir alerjik proteini kodlayan genin bir başka ürüne transferi,
- ii. Zaten alerjik olduğu bilinen bir besinin yapılan uygulamalar sonunda alerjik özelliğinin daha da artması,
- iii. Yeni alerjik proteinlerin ortaya çıkması.

Genetiği değiştirilmiş besinler, alerjik bir özellik taşıyıp taşımadıklarının belirlenmesi amacıyla bir dizi testten geçmektedirler, bu testlerin amacı:

- i. Aktarılan genlerin alerjik bir üründen aktarılıp aktarılmadığını,
- ii. Alerjik olduğu bilinen proteinlerle benzer aminoasit dizilerinin olup olmadığını,
- iii. Aktarılan genlerin kodladığı proteinlerin sindirim enzimlerine dayanıklılığını saptamaktır.

Biyoteknolojik yöntemlerle besin üretme çalışmalarında alerjik reaksiyonların oluşmasına örnek olarak Brezilya fıncığı ile yapılan deneyler verilebilir. Besin içeriği zengin soya geliştirmek amacıyla yapılan çalışmalarda Brezilya fıncığından alınan bir gen soyaya aktarılmıştır. Brezilya fıncığı alerjik özelliği bilinen bir besin türüdür. Yapılan çalışmalar aktarılan genin sentezlediği proteinin Brezilya fıncığındaki alerjik proteinlerden biri olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bunun üzerine transgenik soyanın geliştirilmesine son verilmiştir (1).

b. Potansiyel Kanserojenlik: GDO'lu bitkilerin doğrudan ya da dolaylı olarak kanserojen etkisinin olabileceği birçok araştırmacı tarafından belirtilmektedir. Özellikle, herbisitlere dayanıklı GDO'lu pamuk, soya ve mısır çeşitlerinde kullanılan bazı kimyasal maddelerin doğrudan kanser yapıcı oldukları bilinmektedir. Öte yandan, sindirim sisteminde tam olarak sindirilmeden dolaşım sistemine geçerek kan hücreleri aracılığı ile normal genoma katılabilen yabancı DNA parçalarının da hastalıklara yol açma ihtimali söz konusudur (1).

c. Potansiyel Toksikite: Genetik olarak değiştirilmiş organizmalar, aktarılan yeni gen ürünlerini ve onlardan kaynaklanan sekonder metabolitleri içerdiğinden, potansiyel bir toksisiteye sahiptir. GDO'lu bitkilerde bulunan özellikle zararlı ot ve böcek öldürücü genler toksin üretirek çalıştıklarından, dokularda birikme durumunda, önemli riskler oluşturmaktadırlar. Bu genlerin kullanılması pestisit kullanımını ortadan kaldırmıştır. Ancak, bu toksik madde kalıntılarının ortadan kalktığı

anlamına gelmemektedir. Bu toksinlerin, uzun dönemde insan sağlığına olan etkilerine ilişkin yeterli bilgi bulunmamaktadır. GDO'lu ve normal patateslerle beslenen iki grup farede yapılan çalışmada; normal patateslerle beslenenlerde hiçbir sorun olmamış, GDO'lu patateslerle beslenenlerin ise sindirim sistemlerinde önemli tahribatlar gözlemlenmiştir (1).

d. Antibiyotik Direnç Genleri: GDO'lar konusunda önemli bir diğer tartışma konusu direnç genlerinin durumudur. Direnç genleri, aktarılmak istenen asıl genle birlikte aktararak, gen aktarımının başarılı olduğu organizmaları seçmek için işaretleyici gen olarak kullanılmaktadır. Transgenik bitki üretiminde kullanılan bu genlerin doğaya yayılma ihtimali kimi çevrelerce çok büyük bir tehlike olarak görülmektedir. Zira antibiyotik direnç genlerinin patojen mikroorganizmalara geçmesi durumunda bu bakterilerin neden olduğu enfeksiyonları kontrol altına almak oldukça zorlaşacaktır.

e. Besin Değerlerinde Bozulma: GDO'lu bitkilere; yeni özellikler kazandırılırken, bitkinin orijinal yapısında bulunan bazı kalite öğelerinde önemli azalmalar olduğu tespit edilmiştir. Örneğin, kalp hastalıklarına ve kansere karşı önemli bir koruyucu madde olan "fitoöstrojen" bileşiklerinin, klasiklere oranla, GDO'lu bitkilerde daha az olduğu bilinmektedir (1).

f. Sosyo-Ekonomik Riskler: GDO'lu bitkiler doğada yaşayan diğer bitkilerden farklı olarak, genomlarında kendi türlerine ait olmayan genleri taşıdıklarından, bu bitkilerin yetiştirildiği ülkelerde, başta sağlık olmak üzere, çevre ve sosyo-ekonomik yapı üzerinde önemli riskler söz konusu olmaktadır (1).

g. Pahalılık: GDO'lu ürünlerin tohumları GDO'lu olmayanlara göre; % 25 ile % 100 arasında daha pahalı olup, her yıl yenilenme zorunluluğu söz konusudur. Tohumluluk alımını uzun süre devam ettiremeyecek olan küçük çiftçiler bu durumdan zarar göreceklerdir.

BİTKİ İSLAHINDA KULLANILAN BELİRTEÇ TİPLERİ

Seleksiyonda kullanılacak belirteç tipleri şunlardır; morfolojik belirteçler, biyokimyasal belirteçler, DNA belirteçleri. Bunlar içinde en güvenilir ve en çok kullanılanı DNA belirteçleridir. Başlıca DNA belirteçleri 2'ye ayrılır (2):

1. Sekansa spesifik olmayanlar: Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD), Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi (AFLP).

2. Sekansa spesifik olanlar: Basit dizi tekrarı (SSR), Basit sekans tekrarlamaları arası polimorfizm (ISSR) ve bu tekniklere ilaveten son yıllarda kullanılan; Organel mikrosatellitleri, Sekansı karakterize edilmiş (belirlenmiş) çoğaltılmış bölgeler (SCAR), Bölünerek çoğaltılmış polimorfik diziler (CAPS), Rastgele çoğaltılmış mikrosatellit polimorfizmi (RAMP), Sekansa bağlı çoğaltılmış polimorfizm (SRAP), Hedef bölge çoğaltma polimorfizmi (TRAP), Tek iplik konformasyon polimorfizmi (SSCP).

DNA belirteçlerinin avantajları şöyledir (2):

- Moleküler belirteç sistemlerini kullanmanın fenotipik karakterler yoluyla ıslah çalışmalarına temel üstünlüğü bu sistemlerin biyotik ve abiyotik stres koşullarından bağımsız olmalarıdır.
- Moleküler belirteçler yoluyla ıslah tekniği tahıllar ve diğer ürünlerde kolaylıkla adapte olmuş teknikler arasındadır.
- Moleküler belirteç sistemleri ıslah çalışmalarına hız sağlarlar.
- Doğrulama ya da tanımlama, genetik kaynakların tespiti ve tanımlanması, genetik çeşitliliğin belirlenmesi gibi amaçlarla kullanılabilir.

Islah programları sadece fenotipik ya da moleküler bilgilere dayanabildiği gibi her ikisini de birleştirebilir.

DNA BELİRTEÇLERİNİN BİTKİ ISLAHINDAKİ ROLÜ

1. Genetik Kimlik Tanısı ve Akrabalık Düzeylerinin Belirlenmesi

Genotipik tanımlama ile mevcut veya potansiyel gen kaynaklarının taranması; bu da ileride ıslah çalışmalarının temelini oluşturacak materyallerin genetik düzeyde incelenmesini sağlar.

2. Hibrit Bitki Tanısı

Islah çalışmaları sürecinde ıslah programlarının çeşitli aşamalarında moleküler belirteçlerden yararlanılarak genetik düzeyde tanımlamalar yapılabilmektedir. İstenen genetik özellikteki bitkiler seçilebilmekte buna göre ıslah programına yön verilebilmektedir. Ayrıca en önemli kullanım alanından bir tanesi de melezlemeler sonucunda elde edilen döllerin tanısının bu yolla gerçekleştirilebilmesidir (2).

3. Belirteç Yardımı ile Seleksiyon (Marker Assisted Selection, MAS)

Bu yöntemle; özellikle hastalık ve zararlılara dayanıklılık, üzümlerde çekirdeklilik/ çekirdeksizlik veya herhangi bir maddenin sentezi ile ilişkili belirteçler kullanarak seleksiyon gerçekleştirilmektedir. Böylece zamandan ve enerjiden tasarruf ederek kısa zamanda istenilen özelliğe sahip bitkileri belirleme, gerektiğinde bunları ıslah çalışmaları başlangıcında ebeveyn olarak kullanma gibi avantajlara sahip olunabilir (2).

4. Bulk Segregasyon Analizi

Bu teknik Michelmore ve arkadaşları tarafından 1991 yılında geliştirilmiştir. Genomun spesifik bölgelerindeki belirteç belirlenmesi için geliştirilmiş bir yöntemdir. Orijini tek bir çapraz olan, ayrılmış bir popülasyondan gelen bireylerin iki tane havuzlanmış DNA örneklerinde karşılaştırılması esasına dayanır. Her havuz ya da toplanmış kümede bireyler, ilgilenilen gen ya da özellik bakımından özdeştir ama diğer genler için özdeş değildirlir. Bir karakter

için karşılaştırılan iki havuz onları birbirinden ayıran belirteçleri belirlemek için analiz edilirler (örneğin, bu özellik bir hastalığa direnç olabilir) (1).

5. Tohum Islahı

Tohum ıslahı yapılırken moleküler belirteçler de dahil olmak üzere özel teknikler uygulanır. Bir özelliğe ait bir ya da daha çok karakteristik özellik her örnekte analiz edilir. Tohumlar aşağıdaki özellikleri değiştirmek için seçime uğrarlar: Herbisit toleransı, hastalık direnci, böcek direnci, ürün artışı, yağ miktarı artışı, besin değeri artışı, strese toleransı artırma, büyüme oranını artırma, tercih edilen olgunluk, organsal özellikleri artırma, endüstriyel bazı özellikleri artırma (1).

Tohum ıslahında çeşitli aşamalar bulunur (1): Popülasyonlardan elde edilen tohumlardan istenilen karakteri bulunduran tohumlar seçilir. Seçilen tohumlardan double haploid tohumlar alınır. Her double haploid tohumdan bir numune çıkarılır (tohumların çimlenebilme yeterliliği korunur). Bir özelliğe ait bir ya da daha çok karakteristik her örnekte analiz edilir. Analiz sonuçlarına dayanarak bir ya da daha fazla double haploid tohum seçilir. Seçilmiş double haploidlerden bitki ya da bitki dokuları kültüre alınır ve yetiştirilir.

MAS VE BİTKİ ISLAHINDAKİ UYGULAMA ALANLARI

1. MAS Deneysel Uygulama Basamakları

MAS uygulamalarının gelişimi mısır ile başlamış ve bunu buğday takip etmiştir. Arpa uygulamaları da buğdayda yapılan çalışmalara çok benzemektedir. Tahıllar arasında model bitki olması nedeniyle pirinç üzerinde de birçok araştırma yapılmıştır.

- i. Genom dizi haritası geliştirilir. Quantitative Trait Loci (QTL), spesifik bir özelliği kontrol eden çoklu genlerin dizi haritalarında bulunduğu bölgedir. Popülasyonların ayrımında kullanılan etkili bir yöntemdir.

- Küçükte olsa QTL üzerindeki değişiklikler fenotiplerde farklılıklar ortaya çıkarır.
- ii. İslah sürecinde QTL ile bağlantılı PCR temelli moleküler belirteçler seçilir. Bitki genomlarının fiziksel haritalaması için Rekstriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP, PCR temelli olmayan), Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) ve Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi (AFLP) ilk olarak genellikle popülasyon genetiği ve ıslah çalışmalarında kullanılmıştır (3). Fenotipik bir özelliğin izlenmesi için de kullanılırlar.
 - iii. Genomik fiziksel dönüm noktalarındaki rastgele primerlenmiş PCR ürünlerini dönüştürmek için 'Sequence-Specific Markers (SCAR)' tekniği dizayn edilmiştir. Mikrosatellit belirteç teknikleri, birey içi ve bireyler arası mikrosatellitlerdeki ya da tek dizi tekrar bölgelerindeki varyasyonlarda parmak izi analizleri için kullanılmıştır.
 - iv. Kloroplast ve mitokondri mikrosatellit teknikleri de ıslah ve evrim çalışmalarında kullanılmıştır. Bitki genomunda Expressed Sequence Tags (EST)'nin bulunmasıyla Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (CAPs) gibi sekansa spesifik belirteçler geliştirilmiştir. Genellikle Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) formundaki popülasyonda genlerin allelik varyasyonlarında kullanılmıştır. Yeni genomik elemanlardan retrotranspozon temelli belirteçler yardımıyla da yakın bireyler arasındaki genom boyunca devamsızlıklar analiz edilmiştir (4).

2. MAS Çalışmalarının Avantajları

MAS çalışmalarının avantajları aşağıdaki gibi özetlenebilir (4):

- Fenotipik taramaya göre daha kolay bir metottur. Özellikle tanımlanması zahmetli özelliklerde zaman ve kaynak israfını engeller.
- Çimlenme aşamasında seleksiyon sağlayarak tane kalitesi gibi özelliklerin tanısında kolaylık sağlar. Örneğin pirinçte ekimden önce seleksiyon yapılarak tane kalitesi belirlenmiş olur.
- Çevresel faktörlerden etkilenmediği için güvenilirliği yüksektir. Homozigot ve heterozigot ırkları ayırarak tek bitkinin seçimini sağlar.
- Ülkemizde var olan genetik kaynakların tam bir kimlik tespitlerinin yapılmasını bu yolla genetik rezervin korunmasını sağlar.
- Herhangi bir çeşit karışıklığı durumunda ayrımı ve bu yolla çeşitlerin satış işlemi gibi ticari haklarının korunmasına yardımcı olur.
- Spesifik özellikteki genotiplerin daha titiz, doğru şekilde ayrımını sağlar.

3. MAS Çalışmalarında Yaklaşımlar

MAS çalışmalarında yaklaşımlar aşağıdaki şekilde özetlenebilir (4):

- i. **Geri Çaprazlama:** Hedef bölgenin etkili bir şekilde seçimini sağlar, bağlantı taramalarını minimize eder, tekrar eden ebeveynlerin tespitini kolaylaştırır.
- ii. **Piramitleme:** Patojenlerin spesifik dozları için çoklu hastalık direnç genlerinin tespitinde hız sağlar (geleneksel yöntemlerle olanaklı değildir).
- iii. **Erken Safhada Döl Seçimi:** MAS F2 ve F3 basamaklarında gerçekleştirildiğinden, ıslah programlarının sonraki aşamalarında avantaj sağlar çünkü kaynak tam olarak tespit edilmiş olur.
- iv. **Birleştirilmiş yaklaşımlar:** Bazı durumlarda fenotipik çalışmalar ile MAS'ı birleştirmek faydalı olabilir.

4. MAS Uygulamalarına Örnekler

Solanum chilense bitkisinde RAPD, SCAR, CPS belirteç yöntemleri ile ToMoV virusuna karşı belirlenmiş dayanıklılık geni, Ty-3. Kahverengi pas dayanıklılık genlerine ait belirteçlerinin belirlenmesinde SSR ve diğer DNA belirteçleri başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. SSR belirteçlerini iki farklı ekmeklik buğday popülasyonunda kullanarak Lr13 genine ait belirteci belirlenmiş; Slovakya kışlık buğday çeşitlerinde Lr13 geni SSR belirteçleriyle araştırılmış ve Lr13 genine ait belirteci belirlemek için PstIAFLP tekniği kullanılmıştır (5). Çay bitkisi için ilk (gen) bağlantı haritası RAPD belirteçleri kullanılarak yapılmıştır ve belirteçlerin, tehanine içeriği, tomurcukların filizlenme tarihleri, antraknoza karşı direnç ve soğuğa karşı toleransla ilişkileri belirlenmiştir (5). RFLP tekniğini kullanarak ve kloroplasttan izole ettikleri DNA ile, 10 *Pistacia* türü arasında filogenetik sınıflandırma yapmışlardır. Çalışma sonunda elde ettikleri verilere göre, *Pistacia vera* ile *P. khinjuk* ve *P. mexicana* ile *P. texana* türleri arasında farklılık bulunmadığını, bunların aynı tür olabileceğini bildirmişlerdir (6).

Pistacia eurycarpa, *P. vera*, *P. atlantica* ve *P. terebinthus* türlerini morfolojik ve moleküler seviyede tanımlamışlardır. Morfolojik çalışma sonucunda oluşturulan soyağacında *P. khinjuk* olarak toplanan örneklerin *P. vera*'ya, *P. atlantica* türünden daha yakın olduğunu görmüşlerdir. Moleküler çalışmada ise RAPD tekniğini kullanarak, 40 yabancı *Pistacia* genotipi ve iki *P. vera* çeşidi üzerinde analiz yapmışlar, analizde 10 polimorfik RAPD primeri ile türler arasında ve türler içinde 128'i polimorfik olan toplam 138 skorlanabilir bant elde etmişlerdir (5). Dokuz *Pistacia* türünde RAPD tekniğini kullanarak türler arası akrabalıkları incelemişlerdir (7).

Antep fıstığında Simple Sequence Repeats (SSR) primeri geliştirmek için Kerman çeşidinin DNA'sını kullanarak genomik kütüphane oluşturmuşlardır. Araştırmacılar CA, CT ve CTT tekrarlarını kullanarak sekanslamaya hazır klonlar elde etmişlerdir.

Bu kütüphanelerden faydalanarak dizayn edilen primer çiftlerinden 25 tanesinin sentezinin yapıldığı ve primerlerin değişik orijinli Antep fıstığı çeşitlerinde Li-Cor sekanslama ünitesi kullanılarak test edildiğini bildirmişlerdir (8). SSR ve Sequence-related Amplified Polymorphism (SRAP) yöntemlerini kullanarak *P. atlantica*, *P. integerrima* ve iki türler arası melez PioneerGold-II ve UCB-I bitkilerinde çalışmışlardır (9).

RAPD, Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) ve AFLP yöntemlerini kullanarak Türkiye'de bulunan 69 Antep fıstığı çeşidini tanımlamışlar ve bunlar arasındaki genetik ilişkileri belirlemişlerdir. Çalışmada toplam 572 belirteç elde etmişlerdir. Bunlardan 307 (%53.6) tanesinin polimorfizm gösterdiğini bildirmişlerdir (7). Avrupa ladininde (*Picea abies*) AFLP ve SAMPL yöntemlerini kullanarak parmak izi analizi çalışması yapmışlardır (10). Okalüptüs bitkisinde AFLP belirteçleriyle genetik harita oluşturmuşlardır. *Eucalyptus tereticornis* x *E. globulus* çaprazına ait 91 F1 bitkisi kullanmışlardır (11).

Kayıda, Goldrich x Valenciano çaprazına ait 81 F1 bitkisinde, AFLP, RAPD, RFLP ve SSR belirteçleriyle genetik haritalama çalışması yapmışlardır (12). RAPD, AFLP ve ISSR belirteçleriyle ananas bitkisinde (2n=50), *Ananas comosus* x *Ananas bracteatus* çaprazına ait 46 F1 bitkisi kullanarak, ilk genetik haritayı yapmışlardır (13). Pikan cevizi (*Carya illinoensis*) çeşitlerinde RAPD ve AFLP belirteçlerini kullanarak ilk genetik haritayı yapmışlardır. Haritalama popülasyonu için *Pawnee* x *Eliot* çaprazına ait 120 F1 bitkisini (fullsibling) seçmişler ve double-pseudo-testcross haritalama stratejisini kullanmışlardır (14). SSR, ISSR ve SAMPL yöntemlerini kullanmışlardır. Bu üç belirteç sisteminin polimorfizm bulmadaki etki derecesini, 30 çavdar popülasyonunda yapılan çalışmalarla kıyaslamışlar; bu belirteç sistemlerinden elde edilen verileri farklı istatistiksel metotlar ve katsayılar kullanarak karşılaştırmışlardır (15).

Farklı bölgelerden topladıkları 307 mango genotipi ile yaptıkları çalışmada, genom kütüphanesinden

faydalanarak (GA)n ve (GT)n tekrarlarını içeren SSR primeri geliştirmişlerdir (16). Kanada için ekonomik önemi olan *Picea* cinsinde SAMPL yöntemi kullanarak genetik karakterizasyon çalışması yapmışlardır (17). Yaygın olarak yetişen ve ticari önemi olan domates ve biberdeki genetik akrabalığı belirlemek için SSAP, AFLP ve SSR yöntemlerini kullanmışlar, SSAP yöntemiyle elde ettikleri sonuçları dominant belirteç sistemi olan AFLP ve kodominant belirteç sistemi olan SSR yönteminden elde ettikleri sonuçlarla karşılaştırmışlardır (18). Çalışmada domates için 34 homozigot hat ve biber için 35 homozigot hat kullanmışlardır. SSAP yönteminde domates için bilinen bir retrotranspozon bölge içeren üç primer seti, biber için de yine bilinen bir retrotranspozon bölge içeren üç primer seti kullanmışlardır. Sonuçta, biberde 92 (%76.03)'si polimorfik olan 121 bant elde etmişlerdir. Domateste ise 79 (%57.3)'ü polimorfik olan 138 bant skorlamışlardır. Primer başına düşen toplam bant sayısını domates için 46 ve biber için 40.33, primer başına düşen polimorfik bant sayısını yine sırasıyla 26.33 ve 30.67 olarak bulmuşlardır. AFLP yönteminde dokuz primer seti kullanmışlar, domateste 123 (%14.56)'ü polimorfik olan toplam 845 ve biberde 115 (%8.031)'i polimorfik olan toplam 1432 bant skorlamışlardır. Domateste primer başına düşen toplam bant sayısını 93.89 ve primer başına düşen polimorfik bant sayısını 13.67 olarak tespit etmişlerdir. Yine AFLP yönteminde, biberde primer başına düşen toplam bant sayısını 159.11 ve primer başına düşen polimorfik bant sayısını 12.78 olarak hesaplamışlardır. SSR yönteminde ise domates için 16, biber için 13 primer seti kullanmışlardır. Domates için 39 farklı allel, biber için 31 farklı allel skorlamışlardır. Domateste primer başına düşen toplam allel sayısını 2.44 ve polimorfik allel sayısını yine 2.44 (%100) olarak bulmuşlardır. Biberde ise SSR yöntemiyle primer başına düşen allel sayısı 2.385 ve polimorfik allel sayısı yine 2.385 (%100) olmuştur. SSAP, AFLP ve SSR yöntemlerinden elde edilen polimorfizm bilgi içeriği değerlerini

ise sırasıyla domateste, 0.175, 0.046, 0.393 ve biberde yine sırasıyla, 0.229, 0.026 ve 0.354 olarak bulmuşlardır. SSAP yönteminin üç belirteç sistemi arasında, domates ve biber için, en çok bilgi veren belirteç sistemi olduğunu bildirmişlerdir. En yüksek belirteç indeksini (MI) SSAP yönteminde hesaplamışlardır. Domates için SSAP yönteminin genetik varyasyon ve akrabalığın belirlenmesinde uygun bir yöntem olduğunu, SSR yönteminin ise spesifik özellikleri ortaya koyan bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir. Biber için, üç belirteç sisteminin de genel olarak benzer sonuçlar verdiğini ve bir türden izole edilen retrotranspozon sekansın genel olarak familya içerisindeki (*Solanacea*) diğer türler için de kullanılabilir olduğunu bildirmişlerdir (18).

Texasbademçeşidine ait genomkütüphanesinden 47 yeni SSR primeri geliştirmişlerdir (19). AFLP ve SSR belirteçleriyle çimende (*Festuca arundinacea*) ilk genetik haritayı oluşturmuşlardır. 91 F1 bitkisinde çalışmışlardır (20). İtalya'nın merkezinde bulunan Trasimeno Gölü'nün etrafında birbirine komşu olan üç araziden toplanmış üç RL popülasyonuna ait bürülcede SAMPL ve AFLP yöntemlerini kullanarak hangi yöntemin genetik çeşitliliği belirlemede daha üstün olduğunu kıyaslamışlardır (21). Pamukta C-AFLP ve AFLP yöntemleriyle çalışmışlardır (22). Kaju fıstığında (*Anacardium occidentale*) CP1001 (cüce klon) x CP96 (dev klon) çaprazına ait 85 F1 bitkisinde AFLP ve SSR belirteçlerini kullanarak genetik harita oluşturmuşlardır (23). SAMPL yöntemini kullanarak azot fiksasyonu yapan bir bitki olan *Lupinus angustifolius*'a ait RIL (Recombinant Inbreed Lines) F8 haritalama popülasyonunda genetik haritalama çalışması yapmışlar ve ıslah edilecek genle bağlantılı belirteç bulmaya çalışmışlardır. Çalışmada kullanılan popülasyonu yabani ve ıslah edilmiş iki türün çaprazlanmasıyla elde etmişlerdir (24).

22 ekmeklik buğday ile 12 esmer buğday olmak üzere toplam 34 buğday çeşidinde SAMPL ve AFLP yöntemleriyle genetik varyasyonu ve

türe özgü bantları tespit etmeyi amaçlamışlardır (25). Şeftalide (*Prunus persica* L.) SSR yöntemiyle çalışmışlar ve 51 çeşit şeftalide filogenetik ilişkiyi ve evrimsel gelişimi incelemişlerdir (26).

Doğal bir popülasyon olan *Ilex paraguariensis* türünün dört farklı popülasyonunun genetik çeşitliliği, RAPD tekniği kullanılarak karakterize edilmiştir. Doğal popülasyonlara sahip *Flax* genotiplerinin ve *Eucalyptus argutifolia*'nın polimorfizminin belirlenmesinde de RAPD tekniği kullanılmıştır. Skepner ve arkadaşları tarafından *Acer nigrum* ve *A. saccharum* gibi iki farklı türün genetik benzerliği RAPD belirteçler ile ortaya çıkarılmıştır. Nadir görülen klonal bir bitki olan *Ranunculus reptans* (Ranunculaceae)'ın geniş ve dar popülasyonlarının içinde ve bu popülasyonlar arasındaki varyasyon, genetik uzaklık ve coğrafik uzaklığın bağıntısı (RAPD belirteçler sayesinde) belirlenmiştir.

Pinus halepensis ve *P. brutia* Akdeniz bölgesinin önemli çam türlerinden iki tanesidir. Bu türlerden oluşan bir doğal hibrit popülasyonu RAPD belirteçler kullanılarak analiz edilmiştir. Türkiye için önemli kültür bitkilerinden olan *Vitis vinifera* genomları da RAPD tekniğiyle başarıyla belirlenmiştir.

Labiatae familyasına ait ve İspanya'nın endemik türlerinden olan *Rosmarinus tomentosus*'un (Huber-Morath and Maire) yaşam alanları insan etkisiyle zarar görmüştür. Bu nedenle tür tehdit altında bulunmaktadır. Bu bitkide zonlar arası, popülasyonlar arası ve bireyler arası genetik varyasyonun ilk değerlendirilmesi RAPD belirteçler kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışma ile tehlike altındaki türün korunması için yapılması gerekenleri belirlemede RAPD analizi sonuçları temel alınmıştır.

RAPD belirteç sistemi, özellikle bitki moleküler biyolojisinde Bulk Segregant Analysis (BSA) gibi uygulamalarda da geniş kullanım alanı bulmuştur.

İslah çalışmalarında örnekleme stratejisinin başarısı, türün doğal popülasyonlarında bulunan genetik çeşitliliğin büyük bir kısmının korunabilmesiyle ölçülür. Çünkü gelecekteki çevresel koşullarda değişme, biyolojik zararlılar bugünden bilinmemektedir ve bunlar ortaya çıktığında uzun hayat evrelerine sahip, soy içi eşleşme etkilerine hassas orman ağaçları bu değişen koşullara kolaylıkla adapte olamayabilirler (27). Bu risklerin tahmin edilememesi nedeniyle genetik çeşitlilik önemli bir savunma mekanizması olarak değerlendirilmektedir (28, 29).

SONUÇ

Son yıllarda moleküler biyolojide görülen hızlı ilerleme, bitki genetiği çalışmalarında, genetik çeşitliliğin korunması, üretimi, korunması, ıslah gibi hedefler doğrultusunda kullanımına çok büyük ve önemli katkı sağlamıştır. Fakat bu belirteç yardımcı moleküler biyolojik uygulamalar, moleküler belirteçlerin tamamlayıcısı olmaktadır. Zaman içerisinde, Belirteç destekli seleksiyon (MAS) uygulanan bitki ıslahı çalışmaları, klasik çalışmalardaki seleksiyon hızını ve etkinliğini artırma yönünde önemli katkılar sağlayacaktır.

Sonuç olarak, genetik teknolojileri doğru yönlendirilip desteklendiğinde insanlığa faydalı olabilir, bu nedenle de bu konudaki çalışmalar titizlikle devam etmelidir.

KAYNAKLAR

1. Yıldırım A. Bitki Islahında Markörler Yardımıyla Seleksiyon (MAS). Gaziosmanpaşa Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Bölümü, Tokat, <http://genelbilgiler1.googlepages.com/AY-Markorler-Yardımıyla-Seleksiyon.pdf>
2. fenbilimleri.ege.edu.tr/files/dersler/fen/9129Dokt.htm
3. Althoff DM, Gitzendanner MA, Segraves KA. The utility of amplified fragment length polymorphisms in phylogenetics: a comparison of homology within and between genomes. *Syst Biol*, 2007; 56:477-84.
4. Hafez EE, Ghany AGAA, Zakil EA. LTR-retrotransposons based molecular markers in cultivated Egyptian cottons *G. barbadense*. *Afr J Biotechnol*, 2006; 5:1200-4.
5. Kafkas S, Perl-Traves R, Kaska N. Unusual *Pistacia atlantica* Desf. (Anacardiaceae) monoecious sex type in the Yunt Mountains of the Manisa Province of Turkey. *Israil J Plant Sci*, 2000; 48: 277- 80.
6. Parfitt DE, Badenes ML. Phylogeny of the genus *Pistacia* as determined from analysis of the chloroplast genome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997; 94: 7987-92.
7. Kafkas S, Perl-Traves R. Interspecific relationships in *Pistacia* based on RAPD fingerprinting. *Hortscience*, 2002; 37(1): 168-71.
8. Ahmad R, Ferguson L, Southwick SM. Identification of Pistachio (*Pistacia vera* L.) nuts with microsatellite markers. *J Amer Soc Hort Sci*, 2003; 128 (6): 898- 903.
9. Ahmad R, Ferguson L, Southwick SM. Molecular marker analyses of *Pistachio rootstocks* by simple sequence repeats and sequence related amplified polymorphisms. *J Hort Sci Biotech*, 2005; 80 (3): 382-6.
10. Paglia G, Morgante M. PCR based multiplex DNA fingerprinting techniques for the analysis of Conifer genes. *Mol Breeding*, 1998; 4: 173-7.
11. Marques CM, Araujo JA, Ferreira JG, Whetten R, O'malley DM, Liu B-H, Sederoff R. AFLP genetic maps of *Eucalyptus globulus* and *E. tereticornis*. *Theor Appl Genet*, 1998; 96: 727-37.
12. Hurtado MA, Romero C, Vilanova S, Abbott AG, Llacer G, Badenes ML. Genetic linkage maps of two apricot cultivars (*Prunus armenica* L.) and mapping of PPV (sharka) resistance. *Theor Appl Genet*, 2002; 105: 182-91.
13. Carlier JD, Reis A, Duval MF, Coppens G, Leita JM. Genetic maps of RAPD, AFLP and ISSR markers in *Ananas bracteatus* and *A. comosus* using the pseudo-testcross strategy. *Plant Breeding*, 2004; 123: 186-92.
14. Beedanagari SR, Dove SK, Wood WB, Conner JP. A first linkage map of pecan cultivars based on RAPD and AFLP markers. *Theor Appl Genet*, 2005; 110: 1127-37.
15. Bolibok H, Rakoczy-Trojanowska M, Hromada A, Pietrzykowski R. Efficiency of different PCR based marker systems in assessing genetic diversity among Winter rye (*Secale cereale* L.) inbreed lines. *Euphytica*, 2005; 146: 109-16.
16. Duval MF, Bunel J, Sitbon C, Risterucci MA. Development of microsatellite markers for Mango (*Mangifera indica* L.). *Mol Ecol Notes*, 2005; 5: 824-6.
17. Gupta AK, Kang BY, Roy JK, Rajora OP. Large scale development of selectively amplified microsatellite polymorphic loci (SAMPL) markers in Spruce (*Picea*). *Mol Ecol Notes*, 2005; 5: 481-3.
18. Tam SM, Mhiri C, Vogelaar A, Kerkveld M, Pearce SR, Grandbastien M, Grandbastien A. Comparative analyses of genetic diversities within tomato and pepper collections detected by retrotransposon based SSAP, AFLP and SSR. *Theor Appl Genet*, 2005; 110: 819-31.
19. Mnejja M, Garcia-Mas J, Howad W, Arus P. Development and transportability across *Prunus species* of 42 polymorphic almond microsatellites. *Mol Ecol Notes*, 2005; 5: 531-5.
20. Saha MC, Mian R, Zwonitzer JC, Chekhovskiy K, Hopkins AA. An SSR- and AFLP based genetic linkage map of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). *Theor Appl Genet*, 2005; 110: 323-36.
21. Tosti N and Negri V. On going on farm micro evolutionary processes in neighbouring cowpea landraces revealed by molecular markers. *Theor Appl Genet*, 2005; 110: 1275- 83.
22. Zhang J, Lu Y, Yu S. Cleaved AFLP (C-AFLP), a modified amplified fragment length polymorphism analysis for cotton. *Theor Appl Genet*, 2005; 111: 1385-95.
23. Cavalcanti JVJ, Wilkinsin JM. The First genetic maps of Cashew (*Anacardium occidentale* L.). *Euphytica*, 2007; 157: 131-43.
24. Boersma JG, Pallotta M, Li C, Buirchell JB, Sivasithamparam K, Yang H. Construction of a genetic linkage map using M-AFLP and identification of molecular markers linked to domestication genes in narrow-leaved Lupin (*Lupinus angustifolius* L.). *Cell Mol Bio Lett*, 2007; 10: 331- 44.

25. Altintas S, Toklu F, Kafkas S, Kilian B, Brandolini A, Özkan H. Estimating genetic diversity in durum and bread wheat cultivars from Turkey using AFLP and SAMPL markers. *Plant Breeding*, 2008; 127: 9-14.
26. Li HT, Li YX, Li ZC, Zhang HL, Qi YW, Wang T. Simple sequence repeat analysis of genetic diversity in primary core collection of Peach (*Prunus persica*). *J Integr Plt Biol*, 2008; 50(1): 102-10.
27. Wei RP. Predicting Genetic Diversity And Optimizing Selection In Breeding Programmes. Ph. D. Thesis. Sweedish University of Agricultural Sciences, Department of Forest Genetics and Plant Physiology, Umea, 1995.
28. Ledig FT. The conservation of diversity in forest trees. why and how should genes be conserved? *Bioscience*, 1988; 38: 471-3.
29. Lindgren D. The Population Biology of Clonal Deployment. In: *Clonal Forestry I, Genetics and Biotechnology*, Springer Verlag, 1993, 34-49.

GATEWAY KLONLAMA TEKNOLOJİSİNE GENEL BAKIŞ: DAHA HIZLI, DAHA KOLAY, DAHA ETKİN BİR KLONLAMA YÖNTEMİ

General View on Gateway Cloning Technology: Faster, Easier, More Accurate Cloning Method

Meryem JEFFERIES¹, Mustafa HACİÖMEROĞLU¹

¹Refik Saydam Hıfzıssıhha
Merkezi Başkanlığı,
Aşı Serum Üretim ve Araştırma
Müdürlüğü, ANKARA

Geliş Tarihi: 21.10.2009
Kabul Tarihi: 12.05.2010

İletişim:
Meryem JEFFERIES
Refik Saydam Hıfzıssıhha
Merkezi Başkanlığı,
Aşı Serum Üretim ve Araştırma
Müdürlüğü, ANKARA
Tel : +90 312 458 20 43
E-posta : meryemjefferies@gmail.com

ÖZET

Gateway Klonlama Teknolojisi (GKT), James Hartley, Dominic Esposito ve Mike Brasch adlı araştırmacılar tarafından geliştirilmiştir. Bu teknoloji temel olarak, bakteriyofaj lambdanın spesifik rekombinasyon özelliklerine göre ayarlanabilen, evrensel bir klonlama yöntemidir. Gateway Klonlama iki aşamada gerçekleştirilmektedir. Amplifiye edilen ve attB içeren PCR ürününün, attP içeren uygun bir donör vektörle BP klonaz enzimi yardımıyla birleşerek attL içeren bir giriş klonu meydana getirdikleri aşama BP olarak adlandırılan birinci aşamadır. İkinci aşama ise LR aşaması olarak adlandırılmaktadır. Bu aşamada, BP aşaması ile elde edilen giriş klonu, attR içeren hedef vektöre LR klonaz enzimi yardımıyla transfer edilerek, attB içeren hedeflenen klon elde edilmektedir. GKT'nin birçok avantajı bulunmaktadır. Bu ileri klonlama teknolojisi, hızlı ve etkili bir şekilde DNA zincirinin çoklu vektör sistemine uygulanarak istenen proteinin elde edilmesini ve fonksiyonel analizinin yapılmasını olanaklı kılmaktadır. Ayrıca çok sayıda genetik DNA zincirinin çoklu sayıda hedeflenen vektörlere transferini sağlamaktadır. Çok sayıda örneklerin uygulanmasına uygun formatta adapte edilebilmektedir. İstenen vektör, hedeflenen gateway vektörüne kolaylıkla transfer edilebilmektedir. Sonuç olarak GKT'nin başarılı sonuçları ve avantajları nedeniyle; özellikle aşı ve ilaç geliştirme çalışmalarında ülkemiz bilim insanlarınınca da tercih edilmesi önerilir.

Anahtar Sözcükler: Gateway klonlama teknolojisi

ABSTRACT

Gateway Cloning Technology (GCT) is developed by the scientists James Hartley, Dominic Esposito and Mike Brasch. This technology is an universal cloning method based on the site-specific recombination properties of bacteriophage lambda. The Gateway Cloning is performed in two steps. The first step, called BP recombination, the reaction between an attB-flanked DNA fragment and an attP-containing donor vector to generate an entry clone by BP clonase. The second step is called as LR Reaction. In this stage, attL-containing entry clone

is transferred to attR-containing destination vector via LR clonase to generate an attB-expression clone. GCT have lots of advantages. Advanced cloning technology, provides a rapid and highly efficient way to move DNA sequences into multiple vector systems for functional analysis and protein expression. GCT easily accommodates the transfer of a large number of DNA sequences into multiple destination vectors and suitable for adaptation to high-throughput formats. GCT allows easy conversion of your favorite vector into a Gateway destination vector. It is a usefull system to be used in vaccine and drug development researches. As result, it is recommended that this technic would be preferred by scientists particularly on drug and vaccine development.

Key Words: Gateway cloning technology

GİRİŞ

A. GATEWAY'DE KULLANILAN L's, R's ve de B's P's lerin TANIMLARI NELERDİR ?

L's, R's ve de B's P's terimleri, Gateway Klonlama Teknolojisi (GKT)'nde çok sıklıkla kullanılmaktadır. Bunlar enzimle kesilen ve "attX" (att: attachment :birleşme) olarak ifade edilen spesifik noktalar. attX tanımındaki X harfi, L, R, B ve P'nin yerlerine kullanılmıştır. Buna göre kullanım anlamları aşağıda tanımlanmıştır:

attL : (attachment Left), solda birleşen

attR : (attachment Right), sağda birleşen

attB : (attachment bacteria), bakteri ile birleşen

attP : (attachment phage), fajla birleşen

Bütün giriş klonları, ilgilendikleri genin her iki tarafında da attL'ye sahiptir. Bunlar Gateway sisteminde gereklidir. Çünkü L'ler Gateway rekombinasyon proteinlerle yapışkan uçları oluşturmak için kesilir. Bu yapışkan uçlar, yapışkan ucu olan ve attR'yi içeren hedef vektörle birleşmektedir. Bu reaksiyon LR aşamasında gerçekleşmekte olup, ekspresyon klonunun nasıl oluşturulduğunu göstermekte ve bu ekspresyon klonundan elde edilen proteinin analizi yapılabilmektedir.

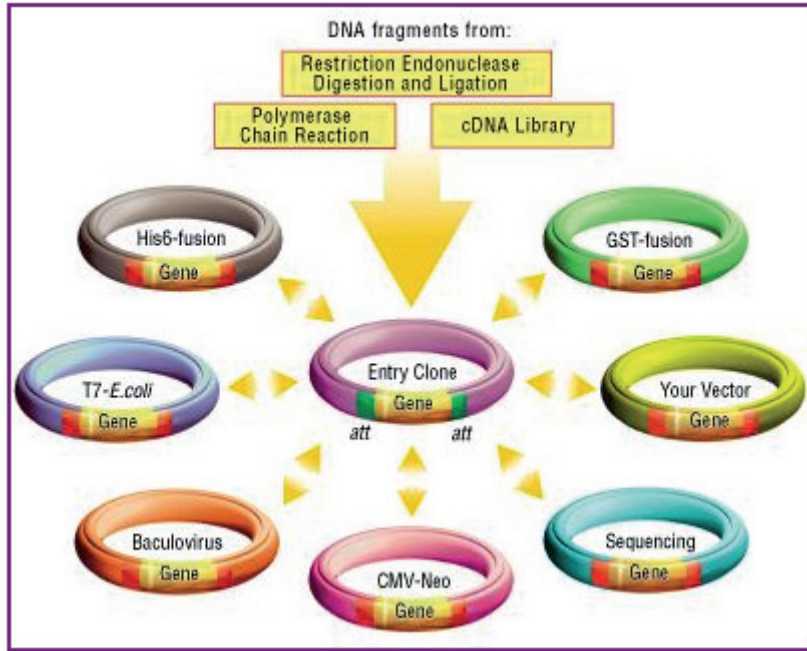
B. GATEWAY KLONLAMA TEKNOLOJİSİ NEDİR ?

Son yıllarda klonlama teknolojilerinin genetik ve moleküler biyolojideki önemi gittikçe artmaktadır. GKT de, diğer geleneksel klonlama yöntemlerinde olduğu gibi, genlerin fonksiyonel analizine, istenen proteinin elde edilmesine ve istenen DNA zincirlerinin klonlanmasına izin vermektedir (1-3). Ancak Gateway klonlama bütün bunları çok daha hızlı ve etkili bir şekilde başarmaktadır. Bu yeni klonlama sisteminde hedeflenen gen, ilk aşamada Gateway'e uygulanarak esas klonlama aşamasına hazır hale getirilmektedir. Gateway yönteminin klonlama aşaması, vektörde (att: attachment) rekombinasyon (birleşen kısım) ve de klonaz enzim karışımlarıyla başarılmaktadır (4-6).

Şekil 1'de görüldüğü gibi ilgilenilen gen giriş klonu oluşturularak gateway sistemine eklenmektedir. Giriş klonunu elde ettikten sonra istenilen gen uygun vektörle birleştirilerek elde edebilmektedir. Elde edilen genlerle tekrar bir giriş klonu oluşturulabilir. Bu da klonaz enzim karışımlarıyla, rekombinasyon att noktalarında birleşerek sağlanabilir.

GWT, iki aşamada gerçekleştirilmektedir (7).

Birinci Aşama: BP olarak adlandırılmaktadır. Bu aşamada, amplifiye edilen ve attB içeren PCR ürünü, attP içeren uygun bir donör vektörle BP klonaz



DNA fragment	: DNA parçası
Restriction Endonuclease	: Restriksiyon endonükleaz enzimi. Bu enzim nükleazlar arasındaki belirli kısımları keser.
Digestion and Ligation	: Parçalama ve bağlama işlemi.
cDNA Library	: Tamamlayıcı (complementary) DNA kütüphanesi
Entry Clone	: Giriş klonu.

Şekil 1. Gateway Klonlama Teknolojisi (10)

enzimi yardımıyla birleşerek attL içeren bir giriş klonu meydana getirir.

İkinci Aşama: LR aşaması olarak adlandırılmaktadır. Bu aşamada, BP aşaması ile elde edilen giriş klonu, attR içeren hedef vektöre LR klonaz enzimi yardımıyla transfer edilerek, attB içeren hedeflenen klon elde edilmektedir.

C. GATEWAY KLONLAMA NASIL KEŞFEDİLDİ ?

GKT, James Hartley, Dominic Esposito ve Mike Brasch adlı araştırmacılar tarafından keşfedilmiş ve geliştirilmiştir (7). James Hartley, 10kDa

büyükliğindeki bir proteini elde ederken zorluklar çektiği için ve Mike Brasch'la birlikte SSR (Site-Specific Recombination) özel rekombinasyon bölgesinin in vitro olarak kullanılabilirliğini ve bu şekilde elde edilen genin yeni bir vektöre uygulanabileceğini öne sürmüşlerdir. Önceleri sadece bir düşünce olan bu tezlerini çalışıp denemiş ve hedefe ulaşmışlardır. Genin yeni bir vektöre verilmesi Gateway'in öncelikli bir avantajı olmuş, daha sonraki çalışmalarda güvenli ve etkili bir klonlama tekniği ortaya çıkmıştır. Bu klonlama ile elde edilen PCR ürünü, BP reaksiyonunda %99 oranında başarılı olmuştur. Bu aşamada kullanılan PDONR vektör, yüksek kopya özelliğine sahip, saflaştırılmış bir DNA zinciridir (7).

D. NEDEN GATEWAY KLONLAMA TEKNOLOJİSİ DAHA AVANTAJLIDIR ?

GKT, spesifik rekombinasyon özelliklerine göre uygulanan evrensel bir klonlama yöntemi olması, protein ekspresyonu ve fonksiyonel analizi için hızlı ve etkili bir şekilde istenen DNA'yı çoklu vektör sistemine transfer edilmesini sağlaması yönünden önemli avantajlara sahiptir (8).

1. Yöntemin birinci avantajı, hızlı ve etkili bir şekilde, DNA zincirinin çoklu vektör sistemine transfer edilerek hedeflenen proteinin ekspresyonu ve fonksiyonel analizini sağlamasıdır. Yöntem çok etkilidir ve %90 başarılıdır. Bu etkinlik, besiyerinde kullanılan antibiyotik ve de ccdB geninin (öldürücü gen) faj üremesini önlemesinden dolayıdır.

2. İkinci avantajı ise, farklı DNA zincirlerinin kullanımına ve ekspresyonuna izin vermesidir. Bu şekilde bütün DNA fragmentleri, PCR fragmentleri, cDNA ve genomik DNA'lar klonlanabilir. Ayrıca Gateway, memelilerde, insektlerde ve Echerichia coli gibi pek çok organizmada kullanılabilir.

3. Diğer bir avantajı, birden fazla giriş klonu oluşturarak, bu klonları aynı anda hedef vektöre bağlayabilmesidir. Özellikle yeni geliştirilmekte olan lipoprotein yapıdaki aşı dizaynı kullanımına çok uygun bir tekniktir.

4. Çok fazla sayıda çalışma tasarlanmasına izin vermesi de diğer bir avantajıdır.

attL ve attR kesim noktalarını içeren yeni bir ekspresyon klon elde edilirken, spesifik rekombinasyon noktaları da oluşturulmaktadır. Bunlar; ekspresyon klonundaki B noktası ve üründeki P noktaları olup, gateway sisteminin tamamen geri dönüşümlü olması nedeniyle çok önemlidir. BP reaksiyonu ile ekspresyon klonunda daha fazla giriş vektörü elde edilebilmektedir (8). LR reaksiyonu, bir giriş klonu, bir hedef vektör ve LR klonaz enzimini gerektirmektedir. BP reaksiyonunda da benzer şekilde farklı vektör ve farklı enzimler lazımdır.

E. GATEWAY KLONLAMANIN ÇALIŞMA MEKANİZMASI NASILDIR ?

İlk aşamada ilgilenilen gen, Gateway sistemine transfer edilmektedir. Bu şekilde verilen gen, giriş klonu ile birleşmektedir.

Giriş klonunun elde edilmesi: Giriş klonu, hedeflenen geni içeren saflaştırılmış bir DNA zinciri ile birleşmiştir. Bu klonu elde etmenin dört aşaması vardır (9).

1. Aşama: Bu aşamada amaç içinde attB birleşme noktası bulunan PCR ürünü yaratmaktır ki bu da 25 baz çifti attB içeren primerin kullanılmasıyla başarılmaktadır.

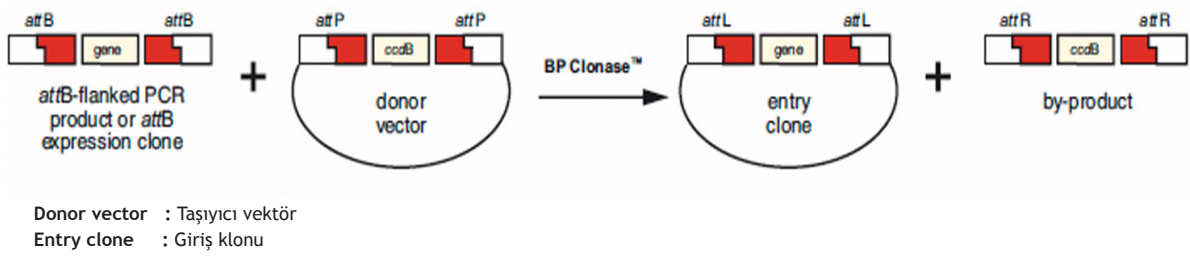
2. Aşama: PCR ürünü, BP reaksiyonuyla uygun donör vektöre transfer edilerek, giriş klonu elde edilmesini sağlamaktadır.

3. Aşama: Elde edilen giriş klonu LR reaksiyonla hedef vektöre transfer edilerek hedef klonun elde edilmesi başarılmaktadır.

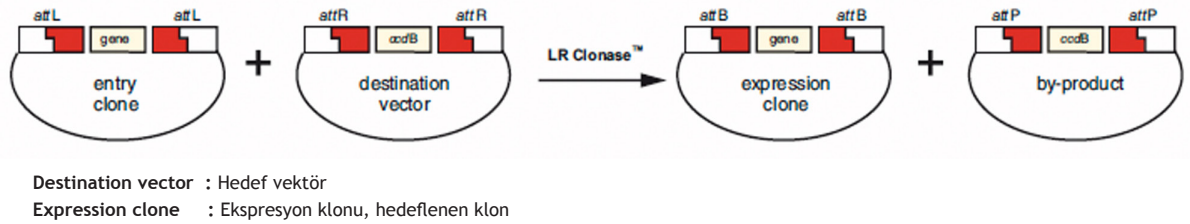
4. Aşama: Elde edilen hedef klonun uygun hücreye transfer edilerek üretilmesi, ekspresyon edilmesi, pürifikasyonu ve fonksiyonel analizidir. Burada elde edilen giriş klonu her şeyi kolaylaştırmaktadır. Çünkü bu lambda fajla DNA LR reaksiyonuyla klonlanabilir veya önceki klonlanan vektörden BP reaksiyonu ile yeni bir giriş klonu elde edilebilir.

BP Reaksiyonu: attB bir substrattır. attB içeren PCR ürünü, attB içeren ekspresyon edilmiş klon ile attP içeren donör vektörle birleşerek attL içeren bir giriş klonunu oluşturmaktadır. Bu reaksiyonu BP klonaz enzimi katalize etmektedir (10,11-14). Şekil 2'de BP reaksiyonunda görüldüğü gibi attB içeren PCR ürünü, attP içeren donör vektörle BP klonaz enzimi yardımıyla attL içeren bir giriş klonu oluşturmaktadır.

LR Reaksiyonu: attL içeren giriş klonu ile hedef vektör birleşerek attB içeren istenen klonu oluşturmaktadır. Bu reaksiyon LR klonaz enzimi tarafından katalize edilmektedir. Şekil 3'deki LR



Şekil 2. Gateway klonlamada BP reaksiyonu (7)



Şekil 3. Gateway klonlamada LR reaksiyonu (7)

reaksiyonunda görüldüğü gibi, attL içeren giriş klonu, LR klonaz enzimi yardımıyla attR içeren hedef vektöre transfer edilerek, hedef klonun elde edilmesini sağlamaktadır.

F. GATEWAY KLONLAMA TEKNOLOJİSİNİ NERELERDE KULLANABİLİRİZ ?

GKT, hem küçük baz çiftli DNA klonlama projelerinde hem de çok fazla sayıda genomik klonlamayı içeren projelerde başarılı bir şekilde kullanılabilir. Diğer rekombinant klonlama tekniklerine göre avantajları olduğu için daha çok tercih edilmektedir. Reaksiyonlarda etkinliği yanı sıra hedef vektörlerin belirlenmesinde de seçenekler sağlamaktadır. Geleneksel yöntemlerde özellikle birden fazla genle çalışıldığı zaman işlem çok uzun sürmekte ve her zaman da başarılı sonuç alınamamaktadır. Çok amaçlı olarak kullanılabilir

vektörlerde klonlanmış ORF (Open Reading Frame)'yi oluşturan gen kütüphaneleri, çalışılacak genom hakkında bilgiler sağlanması açısından önemlidir. Klonlama ve ekspresyonda yeni teknolojiyi kullanarak ORF'nin elde edilmesi, Gateway teknolojisi ile mümkündür (13-16).

Esposito'ya (2009) göre, gen veya genlerin klonlanmasının çeşitli amaçları vardır ve bu yöntemler yapısal araştırmalar, antikor belirlenmesi ve bunların ayrıştırılması, in vivo çalışmalar ve biyokimyasal araştırmalarda başarı ile kullanılmaktadır (17). Bu araştırmaların her birisinde proteinlerin eksprese edilmesi ve klonlanmasında farklı stratejiler gerekmektedir. Örneğin bir araştırmacının GST (Glutathione S-transferase)'ye ihtiyacı varsa bu kişi önce proteini pürifiye etmek isteyecek, affinitesini belirleyecek her olasılığa karşı başarılı olmak için birden fazla vektör deneyecektir. Geleneksel yöntemde olduğu gibi çok sayıda klonlama yaparak

uzun aşamalar kullanmak yerine, gateway yöntemi ile dikkatli bir şekilde 5-10 vektör belirlenir ve hedef klon oluşturulur. Bu şekilde hem zaman hem de maliyetten kazanım sağlanmaktadır. Ayrıca *E.coli*'de çözümlü proteinin ekspresyonu artırılabilir. Bu proteinde hangi Taq polimeraz enziminin önemli olduğunu belirten bir yol mevcut değildir. GKT'yle istenen klonun, farklı Taq kombinasyonlarıyla eksprese edilebilme imkanı vardır. Taq'ın çözümlübirliğini, DNA sekans analizi yapmadan öğrenmek mümkündür (17).

Multisite Gateway teknolojisi, hedef vektörlerden başarılı olanların merkezi bir yerde toplanması ve kullanılması, ORF kütüphanelerinin geliştirilmesi, protein ekspresyon bölgesinde klonlanan proteinin

rekombinasyon noktasının bilinmesi gibi çok önemli avantajlar sağlamaktadır. Klonlamanın önceden standardize edilmesi, protein ekspresyon çalışmasında da yol gösterici olacaktır (8, 9, 17).

Çok sayıda DNA klonlama teknolojisi, reverse aşı biliminde (Genomik yaklaşımla aşı geliştirme) yeni aşı hedefleri için önemli ve kritik bir dönüm noktasıdır. Hedef genom bölgesinin elde edilmesi, beraberinde yeni yöntemleri, bilinmeyen bileşikler ve yeni hedef bölgelerini ortaya çıkarmıştır. Çalışılan bakterilerde üretilen rekombinant proteinler ve bunlara karşı geliştirilen antikolar yeni aşı adaylarını da ortaya çıkarmaktadır. Gateway sistemi, aşı-ilaç geliştirme araştırmalarının geleceğini yönlendirecek yeni ve etkili bir klonlama tekniğidir.

KAYNAKLAR

1. Watt P. Screening for peptide drugs from the natural repertoire of biodiverse protein folds. *Nat Biotechnol*, 2006; 24 (2): 177-83.
2. Hartley JL, Temple GF, Brasch MA. DNA Cloning Using in vitro site-specific recombination. *Genome Research*, 2000; 10: 1788-95.
3. Landy A. Dynamic, Structural, and regulatory aspects of lambda site-specific recombination. *Ann Rev Biochem*, 1989; 89: 913-49.
4. Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA, Struhl K. *Current Protocols in Molecular Biology*. New York: Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience 1994.
5. Bernard P, Couturier M. Cell Killing by the F Plasmid CcdB Protein involves poisoning of DNA-topoisomerase II complexes. *J Mol Biol*, 1992: 226; 735-45.
6. Bernard P, Kezdy KE, Melderen LV, Steyaert J, Wyns L, Pato ML, Higgins PN, Couturier M. The F plasmid CcdB protein induces efficient ATP-dependent DNA cleavage by gyrase. *J Mol Biol*, 1993; 234: 534-41.
7. Kozak M, Landy A Gateway Technology A universal technology to clone DNA sequences for functional analysis and expression in multiple systems. *Catalog nos.* 12535-019. Version E. 22. 2003.
8. Calmels T, Parriche M, Burand H, Tiraby G. High efficiency transformation of *Tolypocladium geodes* conidiospores to phleomycin resistance. *Curr Genet*, 1991; 20: 309-14.
9. Drocourt D, Calmels TPG, Reynes JP, Baron M, Tiraby G. Cassettes of the *Streptoalloteichus hindustanus* ble Gene for transformation of lower and higher eukaryotes to phleomycin resistance. *Nucleic Acids Res*, 1990; 20: 40-49.
10. Aaron J, Patton Gateway Cloning Technology Overview. <http://www.lifetech.com/gateway> Interview. *Life Technologies* 2009.
11. Gatignol A, Baron M, Tiraby G. Phleomycin Resistance Encoded by the ble Gene from Transposon Tn5 as a Dominant Selectable Marker in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Gen Genet*, 1987; 2007: 342-8.
12. Kertbundit S, Greve H, Deboeck F, Montagu MV, Hernalsteens JP. In vivo Random-glycuronidase Gene Fusions in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991; 88: 5212-6.
13. Kozak M. An analysis of 5'-noncoding sequences from 699 vertebrate messenger RNAs. *Nucleic Acids Res*, 1987; 15: 8125-48.

14. Mulsant P, Tiraby G, Kallerhoff J, Perret J. Phleomycin resistance as a dominant selectable marker in CHO Cells. *Somat Cell Mol Genet*, 1988; 14: 243-52.
15. Bushman W, Thompson JF, Vargas L, Landy A. Control of directionality in lambda site specific recombination. *Science*, 1985; 230: 906-11.
16. Hartley J, Esposito D. Gateway recombination cloning comes of age quest magazine presents. Davidson's Molecular Biology Homepage 2009.
17. Bernard P, Bushman W, sasaki Y. Gateway Technology Manual, A Universal technology to Clone DNA sequences for Functional analysis and expression in multiple systems. Invitrogen 2007.

DÜZELTME -1 / ERRATUM-1

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi'nin; 2009 yılı Cilt/Vol 66, Sayı/Number 3, Ek/Suppl 3'de yer alan "Ulusal Zehir Merkezi 2008 Yılı Çalışma Raporu Özeti" isimli raporun Çalışma Grubu aşağıdaki şekilde yeniden düzenlenmiştir;

ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİ (UZEM) 2008 ÇALIŞMA RAPORU**2008 Yılı Çalışanları****Zehir Araştırmaları Müdürü**

Dr.Vet.Hek. Ramazan UZUN

Zehir Araştırmaları Müdür Yardımcıları

Uzm.Bio. Bahtiyar YÜRÜK

Bio. İsmail ELYÜREK

UZEM Sorumlusu

Dr. Nurhan ÖZCAN

Ulusal Zehir Danışma Merkezi Çalışanları

Dr. Didem İKİNCİOĞULLARI

Dr. Ebru GÜRSEL

Dr. Naci ÖZER

Dr. Tuba KABAKÇI

Dr. Nüvit GÖNÜL

Dr. Arzu ŞAKUL SAYIN

Dr. Nuşin HARMANCI

Dr. Selçuk YAKIŞTIRAN

Dr. Bedriye KİTİZ

Dr. Saadet ŞİMŞEK

Dr. Ahmet AĞAÇAYAK

Dr. Kadriye Betül USLU

Dr. Umay BUDAK

Dr. Esra DALKILIÇ

Dr. Ali Hakan BOZKURT

Tıb.Tek. Güler KARAHAN

Tıb.Tek. Gülsen TOPAKTAŞ

Hem. Sibel YAMALI

Hem. Elvan KARAOĞLU

Hem. Nihal EMİROĞLU

Sağ.Tek. Çiler YOLCU

Hem. Fatmagül AKYÜREK

Hem. Meral ÇERÇİ

Sağ.Tek. Fatma ÖZCAN

Bilgi işlem destek ekibi

Bio. Murad BAYRAM

Mak.Tek. Ertuğrul GÜLBEYAZ

Ayrıca;

- S:52’de yer alan “**Tablo 35: Bağımlılık Yapan Kimyasallara Bağlı Zehirlenme Vakalarının Zehirlenme Nedenine Göre Dağılımı, 2008**” aşağıdaki şekilde düzeltilmiştir;

Yaş Grubu	İntihar (kasti)	Kaza	iyatrojenik	Mesleki	Çevresel	Yanlış kullanım	Bağımlılık	Advers etki	Besin zehirlenmesi	Diğer	Bilinmeyen	Toplam
0 - 1 Yaş	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1 Yaş	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
2 Yaş	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
3 Yaş	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4 Yaş	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 - 9 Yaş	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
10 - 14 Yaş	3	1	0	0	1	0	5	0	0	1	1	12
15 - 19 Yaş	12	5	0	0	0	0	33	0	0	7	8	65
20 - 29 Yaş	27	3	0	0	2	1	86	0	0	5	18	142
30 - 39 Yaş	5	4	0	0	1	0	33	0	0	4	7	54
40 - 49 Yaş	2	0	0	0	0	0	7	0	0	3	0	12
50 - 59 Yaş	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6
60 - 69 Yaş	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
70 + Yaş	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	3
Bilinmeyen	0	2	0	0	0	0	7	0	0	0	0	9
TOPLAM	49	19	0	0	4	1	180	0	0	21	34	308

- S:54’de yer alan “**Tablo 38: Gıda Kaynaklı Zehirlenme Vakalarının Zehirlenme Nedenine Göre Dağılımı, 2008**” aşağıdaki şekilde düzeltilmiştir;

Yaş Grubu	İntihar (kasti)	Kaza	iyatrojenik	Mesleki	Çevresel	Yanlış kullanım	Bağımlılık	Advers etki	Besin zehirlenmesi	Diğer	Bilinmeyen	Toplam
0 - 1 Yaş	0	16	0	0	0	0	0	0	10	0	1	27
1 Yaş	0	22	0	0	0	1	0	0	13	2	0	38
2 Yaş	0	60	0	0	4	0	0	0	40	7	0	111
3 Yaş	0	97	0	0	4	0	0	1	63	6	1	172
4 Yaş	0	70	1	0	1	0	0	1	42	5	0	120
5 - 9 Yaş	0	92	0	0	6	0	0	1	149	29	5	282
10 - 14 Yaş	0	47	0	0	3	1	2	0	138	23	12	226
15 - 19 Yaş	9	27	0	0	6	4	12	0	92	30	10	190
20 - 29 Yaş	25	22	0	0	5	2	18	1	195	23	14	305
30 - 39 Yaş	13	19	0	0	5	5	8	0	164	19	7	240
40 - 49 Yaş	9	27	0	0	5	1	4	0	138	26	4	214
50 - 59 Yaş	11	23	0	0	3	0	6	0	121	24	6	194
60 - 69 Yaş	5	17	0	0	3	0	0	1	94	13	4	137
70 + Yaş	1	6	0	0	1	0	1	0	62	11	1	83
Bilinmeyen	3	64	0	0	3	0	0	2	165	11	3	251
TOPLAM	76	609	1	0	49	14	51	7	1.486	229	68	2.590

- S:64’de yer alan F: tarım ilaçları tablosunda kodlama sütununda “F” yerine “G” ve “G” yerine “H” kodlanmıştır.
- S. 66’da “J005” yerine “C005” kodlanmıştır.

Düzeltilir, özür dileriz.

DÜZELTME -2 / ERRATUM-2

Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 'nin 2009 yılı Cilt 66, Sayı 4 'de yer alan 2. sıradaki araştırma makalesinin; "Evaluation of Usnic Acid in Some Likens of Turkey by HPLC Analysis and Screening of their Antimicrobial Activity" adlı İngilizce başlığındaki "Likens" kelimesi hatalıdır. "Lichens" olarak düzeltir, özür dileriz.

TELİF HAKKI DEVRİ / COPYRIGHT RELEASE

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

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

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

Makale Türü/Article Type:

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

Makale Başlığı/Article Entitled :

Sayın Editör,

Yayınlanmasi 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 evaluation by this bulletin,
3. The article contains no unlawful statements and does not contain any materials that violate any personal or proprietary rights,
4. The article publishing rights belong to Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology.

(...)1) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

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

(...)2) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

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

(...)3) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

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

(...)4) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

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

(...)5) İmza/Signature :

Yazışma Adresi/Corresponding Address :

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

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

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

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

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

Yayın ve Dokümantasyon Müdürlüğü

Cemal Gürsel Cad. No: 18 06100 Sıhhiye-ANKARA-TÜRKİYE

Tel/Phone: 0312 458 23 64

Faks/Fax: 0312 458 24 08

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

