



TFK

İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ KLİNİKLERİ

Cilt 3 • Sayı 3 • Kasım 2020

GENEL DOI: 10.17932/IAU.TFK.2018.008
CİLT 3 SAYI 3: 10.17932/IAU.TFK.2018.008/2020.303

Sahibi/Proprietor

Doç. Dr. Mustafa AYDIN

Yazı İşleri Müdürü/Editor-in-Chief

Zeynep AKYAR

Editör/Editor

Dr. Yaşar Meryem Yeşim ÜNLÜÇERÇİ

Editör Yardımcıları/Editorial Board

Dr. Duygu ŞAHİN

Dr. Gülşah KOÇ

Dr. Turan Onur BAYAZIT

Dr. Dilek DÜZGÜN ERGÜN

Dergi Sekreteryası

Öğr. Gör. Özge ALTINOK

Dil/Language

Türkçe - İngilizce

Yayın Periyodu/Publication Period

Yılda üç kez yayınlanır

Mart - Temmuz - Kasım

İdari Koordinatör/Administrative

Coordinator

Tamer BAYRAK

Kapak Tasarım/Cover Design

Nabi SARIBAŞ

Grafik Tasarım/Graphic Design

Gözde KILIÇ

Yazışma Adresi/Correspondence Address

Florya Yerleşkesi Beşyol Mah.

İnönü Cad. No: 38 Sefaköy

34295 Küçükçekmece/İstanbul, Türkiye

Tel: 444 1 428 - Faks: 0 212 425 57 97

E-Mail: atk@aydin.edu.tr

Web: www.aydin.edu.tr

Baskı/Printed by

Gamze Yayıncılık Matbaacılık Reklam

Kırtasiye Turizm San. Ve Tic. Ltd. Şti.

15 Temmuz Mh. 1485. Sokak No:58A

Bağcılar-İstanbul

Gsm: 0 (532) 303 41 84

Telefon: 0 (212) 424 56 40

e-mail:

cengiztas1964@gmail.com

gamzecopy@gamzecopy.com

BİLİM KURULU - SCIENTIFIC BOARD

Dr. Abdullah Sonsuz - *İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi*

Dr. Ahmet İlvan - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Ahmet Şükrü Aynacıoğlu - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Ali Fuat Erdem - *Sakarya Üniversitesi*

Dr. Ahmet Tiryaki - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Ahu Soyocak - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Ayhan Bilir - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Ayşe Balat - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Ayşe Canan Yazıcı Güvercin - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Ayşe Kubat Üzüm - *İstanbul Üniversitesi*

Dr. Ayper Somer - *İÜ İstanbul Tıp Fakültesi*

Dr. Bahriye Özlem Konukseven - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Banu Kumbak Aygün - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Beyhan Ömer - *İÜ İstanbul Tıp Fakültesi*

Dr. Behzat Noyan - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Burak Altun - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Çiğdem Kayacan - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Didem Turgut Coşan - *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi*

Dr. Erhan Alabay - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Evgeny A. Levin - *Novosibirsk University*

Dr. Evrim Özkorumak - *Karadeniz Teknik Üniversitesi*

Dr. Gamze Özçürümez - *Başkent Üniversitesi*

Dr. Gökhan Çakıroğlu - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Gökşin Şengül - *Erzurum Atatürk Üniversitesi*

Dr. Gönül Kanıgür - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Güher Saruhan Direskeneli - *İÜ İstanbul Tıp Fakültesi*

Dr. Gülseren Kökten - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Güray Demir - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Hafize Sezer - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Halil Alış - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Halil Çetingök - *İstanbul Üniversitesi*

Dr. Haner Direskeneli - *Marmara Üniversitesi*

Dr. Hanifegül Taşkiran - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Hülyam KURT - *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi*

Dr. Indrani Kalkan - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Kaya Köksalan - *İÜ DETAE*

Dr. Levent Kaptanoğlu - *Bahçeşehir Üniversitesi*

Dr. Merih Özgen - *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi*

Dr. Metin Ateş - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Metin Kapan - *İstinye Üniversitesi*

Dr. Mithat Büyükkelik - *Gaziantep Üniversitesi*

Dr. Murat Aksu - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Murat Vural - *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi*

Dr. Mustafa Kemal Aslantaş - *Marmara Üniversitesi*

Dr. Müge KIRAY - *Dokuz Eylül Üniversitesi*

Dr. Nurcan Uysal - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Oral Öncül - *İÜ İstanbul Tıp Fakültesi*

Dr. Orhan Canbolat - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Osman Ata Uysal - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Osman Ekinci - *Sağlık Bilimleri Üniversitesi*

Dr. Özer Akgül - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Özgün Enver - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Reyhan Çalışkan - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Sabahat Alışır Ecder - *Medeniyet Üniversitesi*

Dr. Sami Sökücü - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Seldağ BEKPINAR - *İÜ İstanbul Tıp Fakültesi*

Dr. Semih Ayan - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Serdar Baki Albayrak - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Süphan Ertürk - *İÜ İstanbul Tıp Fakültesi*

Dr. Şükrü ÖZTÜRK - *İÜ İstanbul Tıp Fakültesi*

Dr. Tarık Esen - *Koç Üniversitesi*

Dr. Tevfik Erhan Coşan - *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi*

Dr. Tamer ZEREN - *Celal Bayar Üniversitesi*

Dr. Tunaya Kalkan - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Turgut İpek - *Altınbaş Üniversitesi*

Dr. Tolga Güven - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Uğur Tekin - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Uğur Özbek - *Acıbadem Üniversitesi*

Dr. Yakup TUNA - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Yaşar Ali Öner - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Dr. Yavuz Demiraran - *Medipol Üniversitesi*

Dr. Yıldız Okuturlar - *Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi*

Dr. Zafer Çukurova - *Sağlık Bilimleri Üniversitesi*

Dr. Zeynep Solakoğlu - *İÜ İstanbul Tıp Fakültesi*

Dr. Zülfikar POLAT - *İstanbul Aydın Üniversitesi*

Derleme – Review

Açıklanamayan İnfertil Çiftlerde Erkek Faktörü: Sperm DNA Fragmantasyonu Değerlendirmesi

Male Factor in Uncompleted Infertile Pairs: Evaluation of Sperm DNA Fragmentation

Hale BAYRAM, Mehmet CINCIK.....109

Özgün Araştırma – Original Article

İnsan Rekombinant Nano-Antikor Yapılarından Kanser Tanısı ve Tedavisine Yönelik Etken Madde Geliştirilmesi

Development of an Active Substance from Human Recombinant Nano-Antibody Constructs For the Diagnosis and Treatment of Cancers

Nurşah ERSEZEN, Bertan Koray BALCIOĞLU, Aysin ÖZDEMİRBAHADIR, Melis DENİZCİ ÖNCÜ, Hasan Ümit ÖZTÜRK, Müge SERHATLI, Filiz KAYA, Hilal YAZICI, Berrin ERDAĞ.....115

Ayaktan Bakım Merkezlerinde Hasta Güvenliği Kültürü Algısına Yönelik Bir Alan Uygulaması

A Field Application for Perception of Patient Safety Culture in Outpatient Care Centers

Gözde ORAN YÖNTEM, Haluk ŞENGÜN.....127

Yara Örneklerinden İzole Edilen Metisilin'e Dirençli *Staphylococcus Aureus* Suşlarında Virulans Genlerinin ve Klonal İlişkilerinin Araştırılması

Determination Virulence Genes and Clonal Relationships of Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus Strains Isolated from Wound Samples

Mert SUDAĞIDAN, Samet UÇAK, Orhan YAVUZ, Mediha Nur ZAFER YURT, Behiye Büşra TAŞBAŞI, Elif Esmâ ACAR, Veli Cengiz ÖZALP, Ali AYDIN, Şöhret AYDEMİR.....137

Olgu Sunumu – Case Report

An Unusual Togetherness: Ileo-ileal Intussusception Due to an Ileal Lipoma and Acute Appendicitis

Nadir Bir Birliktelik: İleal Lipoma Bağlı İntususepsiyon ve Akut Apendisit

Sefa ERGUN, Sangar M Faraq ABDULRAHMAN, Server Sezgin ULUDAG.....145

Bel Ağrısı ile Başvuran Sakral Perinöral Kist Tanılı Bir Olgu Sunumu

A Diagnosed Sacral Perineural Cyst Presenting with Low Back Pain Case Report

Çağrı KILIÇ.....151

DOI NUMALARALARI

Genel DOI: 10.17932/IAU.TFK.2018.008

TFK Kasım 2020 Cilt 3 Sayı 3 DOI: 10.17932/IAU.TFK.2018.008/2020.303

Açıklanamayan İnfertil Çiftlerde Erkek Faktörü: Sperm DNA Fragmantasyonu Değerlendirmesi

Male Factor in Uncompleted Infertile Pairs: Evaluation of Sperm DNA Fragmentation

Hale BAYRAM, Mehmet CINCIK

10.17932/IAU.TFK.2018.008/tfk_v03i3001

İnsan Rekombinant Nano-Antikor Yapılarından Kanser Tanısı ve Tedavisine Yönelik Etken Madde Geliştirilmesi

Development of an Active Substance from Human Recombinant Nano-Antibody Constructs For the Diagnosis and Treatment of Cancers

Nurşah ERSEZEN, Bertan Koray BALCIOĞLU, Aysin ÖZDEMİRBAHADIR, Melis DENİZCI ÖNCÜ, Hasan Ümit ÖZTÜRK, Müge SERHATLI, Filiz KAYA, Hilal YAZICI, Berrin ERDAĞ

10.17932/IAU.TFK.2018.008/tfk_v03i3002

Ayaktan Bakım Merkezlerinde Hasta Güvenliği Kültürü Algısına Yönelik Bir Alan Uygulaması

A Field Application for Perception of Patient Safety Culture in Outpatient Care Centers

Gözde ORAN YÖNTEM, Haluk ŞENGÜN

10.17932/IAU.TFK.2018.008/tfk_v03i3003

Yara Örneklerinden İzole Edilen Metisilin'e Dirençli *Staphylococcus Aureus* Suşlarında Virulans Genlerinin ve Klonal İlişkilerinin Araştırılması

Determination Virulence Genes and Clonal Relationships of Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus Strains Isolated from Wound Samples

Mert SUDAĞIDAN, Samet UÇAK, Orhan YAVUZ, Mediha Nur ZAFER YURT, Behiye Büşra TAŞBAŞI, Elif Esmâ ACAR, Veli Cengiz ÖZALP, Ali AYDIN, Şöhret AYDEMİR

10.17932/IAU.TFK.2018.008/tfk_v03i3004

An Unusual Togetherness: Ileo-ileal Intussusception Due to an Ileal Lipoma and Acute Appendicitis

Nadir Bir Birliktelik: İleal Lipoma Bağlı İntususepsiyon ve Akut Apandisit

Sefa ERGUN, Sangar M Faroq ABDULRAHMAN, Server Sezgin ULUDAG

10.17932/IAU.TFK.2018.008/tfk_v03i3005

Bel Ağrısı ile Başvuran Sakral Perinöral Kist Tanılı Bir Olgu Sunumu

A Diagnosed Sacral Perineural Cyst Presenting with Low Back Pain Case Report

Çağrı KILIÇ

10.17932/IAU.TFK.2018.008/tfk_v03i3006

Editörden

Değerli "Tıp Fakültesi Klinikleri Dergisi" okuyucuları,

Dergimizin üçüncü cildinin son sayısı ile karşınızda olmanın mutluluğunu yaşıyoruz. Bu sayımızda, infertil çiftlerde erkekte karşılaşılan sorunların irdelendiği bir derleme bulunmaktadır. Kanser tanısı ve tedavisinde kullanılacak aday moleküllerin geliştirilmesinin amaçlandığı bir ön çalışma ile yara enfeksiyonlarının tedavisinde suşların antibiyotik duyarlılıklarının, virulans özelliklerinin değerlendirildiği ve ayaktan sağlık hizmeti veren kuruluşlarda hasta güvenliği kültürü düzeyinin ölçümlendiği üç araştırma makalesine yer vermekteyiz. Ek olarak, tarlov kisti ve akut apandisit ile ilgili iki olgu sunumunu sizlere sunmaktayız.

Pandemi döneminin zorlu koşullarında değerli çalışmalarını dergimiz aracılığıyla paylaşan sağlık çalışanlarına teşekkür ediyor, sizlere iyi okumalar diliyoruz.

Dr. Y.M. Yeşim ÜNLÜÇERÇİ
İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi

Açıklanamayan İnfertil Çiftlerde Erkek Faktörü: Sperm DNA Fragmentasyonu Değerlendirmesi

Hale BAYRAM¹, Mehmet CINCIK²

Öz

Açıklanamayan infertilite günümüzde tüm infertil çiftlerin %30-40'ını oluşturmaktadır. İnfertilite pratiğindeki tüm testlerin normal olmasına karşın çiftin gebelik elde edememesi durumu olarak tanımlanır. Bu durumda farklı ileri tetkikler yapmak gerekmektedir. Bu konuda en çok yapılan çalışma açıklanamayan infertil çiftlerde erkek partnerin değerlendirilmesidir. Bunun için sperm deoksiribonükleik asit (DNA) fragmentasyonu (SDF) en çok araştırılan patolojiler arasında yer alır. Sperm kalitesi gebelik oluşumu ve devamlılığı için büyük önem taşımaktadır.

Sperm DNA bütünlüğünü değerlendirmek için çalışmalarda birçok yöntem kullanılmaktadır. TdT-dUTP nick-end-labelling (TUNEL) yöntemi, tek hücre jel elektroforezi (COMET analizi), sperm kromatin yapı analizi (SCSA), flowsitometrik analiz, akridin oranj testi ve floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemi sıklıkla kullanılan yöntemler arasındadır. Birçok çalışmada da testlerden ikisi ya da daha fazlası bir arada kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar açıklanamayan infertilite tanısı almış çiftlerde erkek partnerden alınan spermilerin DNA fragmentasyon oranının yüksek olduğunu göstermiştir. Bu çiftlerde ya gebelik oluşmamakta ya da erken dönem gebelik kayıpları yaşanmaktadır. Kadın infertilitesi yönünden değerlendirilip herhangi bir patoloji saptanmayan, sperm DNA fragmentasyon oranı normal kabul edilebilir çiftlerde gebelik oluşmaktadır.

Anahtar Kelimeler: İnfertilite, Erkek, Spermatozoa, DNA fragmentasyonu

Male Factor in Uncompleted Infertile Pairs: Evaluation of Sperm DNA Fragmentation

Abstract

Unexplained infertility now accounts for 30-40% of all infertile couples. Despite normal testing of all tests in infertility practice, it is defined as the situation that the couple cannot achieve pregnancy. In this case, it is necessary to conduct different advanced examinations. The most common study on this subject is the evaluation of the male partner in infertile couples. For this, sperm deoxyribonucleic acid (DNA) fragmentation (SDF) is among the most researched pathologies. Sperm quality is of great importance for pregnancy formation and continuity.

Many methods are used in studies to evaluate sperm DNA integrity. TdT-dUTP nick-end-labelling (TUNEL) method, single cell gel electrophoresis (COMET analysis), sperm chromatin structure analysis (SCSA), flow cytometric analysis, acridine orange test, and fluorescent in situ

¹Maltepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

²Maltepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı

Yazışma Adresi: Öğr. Gör. Hale Bayram, Maltepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Marmara Eğitim Köyü 34857 Maltepe/İstanbul, e-posta: halebayram@maltepe.edu.tr, ORCID ID: 0000-0002-6104-8820

Geliş Tarihi: 15 Temmuz 2020 - Kabul Tarihi: 19 Ağustos 2020

DOI: 10.17932/IAU.TFK.2018.008/tfk_v03i3001

hybridization (FISH) method are among the frequently used methods. In many studies, two or more of the tests are used together. Studies have shown that in couples diagnosed with unexplained infertility, the DNA fragmentation rate of sperm from a male partner was found to be high. Pregnancy does not occur or early pregnancy losses occur in these couples. Pregnancy occurs in couples whose sperm DNA fragmentation is considered normal and no pathology is detected after being evaluated for female infertility.

Keywords: Infertility, Man, Spermatozoa, DNA fragmentation

Giriş

İnfertilite bir yıl korunmasız düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebelik elde edilememesi durumu olarak tanımlanmakta ve üreme çağındaki çiftlerin %15'ini etkilemektedir (1). İnfertil tanısı konmuş çiftlerin %30-40'ında erkeğe bağlı, %40-50'sinde ise kadına bağlı nedenlerin olduğu görülmektedir (2). Açıklanamayan infertilite, infertilite tanısında kullanılan tüm standart testlerden normal sonuç elde edilip fekondabiliteyi bozan faktörlerin açığa çıkartılmadığı durumdur (3). Açıklanamayan infertilite görülme sıklığı %22-28 arasında değişmekte olup, erkek infertilitesine neden olan faktörler değerlendirildiğinde açıklanamayan infertilite oranının %40 civarında olduğu ve testiküler hastalıklarla birlikte erkek infertilitesinin başlıca sebepleri arasında olduğu görülmektedir (4). Bununla birlikte Y kromozomundaki mikrodelesyonlar oligospermi ve azosperminin nedenleri arasında yer almaktadır (5).

Bu derlemede açıklanamayan infertilite tanısı alan çiftlerde erkeğin sperm DNA hasarı yönünden değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

Erkek İnfertilitesi Nedenleri ve Sperm DNA Fragmantasyonu

Sperm DNA'sı

Memeli spermi oldukça organize ve yoğun olarak paketlenmiş yapıdadır. Sperm bu özelliğiyle somatik hücrelerden oldukça farklıdır. Sperm morfolojisine uyumlu olarak DNA özel olarak paketlenir. Epididimiste

olgunlaşma sırasında bu paketlenme gerçekleşir. İnsan spermleri memeli spermlerine göre %15 histon proteini içerdiğinden daha az kompakt yapıdadır. İnfertil erkeklerde histon/protamin oranı bazı çalışmalarda yüksek bulunmuştur. İnsan sperminde P1 ve P2 olmak üzere iki tür protamin bulunurken; infertil erkeklerde P2 ekspresyonunda değişimler olduğu gösterilmiştir. Bu da insan sperm kromatininin daha az sıkıştırıldığını ve DNA fragmantasyonunun fazla olduğunu göstermiştir (6).

Sperm DNA Fragmantasyonu (SDF)

Sperm paternal genetik materyalin oosite aktarılmasını sağlar. Sperm motilitesi ya da morfolojisinde sorun olmamasına rağmen DNA fragmantasyonu görülebilir. DNA fragmantasyonu infertil erkeklerin çoğunda görülmekte ve tek ya da çift zincir DNA kopmalarıyla karakterizedir. Kromatin bütünlüğünü bozan sebepler radyasyon, varikozel, sigara kullanımı, kemoterapi gibi birçok faktör olabilmektedir (7).

Sperm DNA hasarı ve fragmantasyonunu belirlemede kullanılan testler

Sperm DNA hasarları ve fragmantasyonunun belirlenmesinde günümüzde aşağıda kısaca açıklanan birçok test kullanılmaktadır. TUNEL yöntemi, COMET yöntemi, SCSA, halo sperm yöntemi (SCD), akrinin oranj testi, anilin mavi boyaması, toluidine mavi boyaması, floresan in situhibridizasyon (FISH) yöntemi sıklıkla kullanılan yöntemler arasındadır.

Terminal Uridine Nick-End Labeling (TUNEL) Yöntemi

TUNEL yönteminde terminal deoksiniükleotidiltransferaz (TdT) DNA polimeraz enziminden yararlanır. Bu enzim tek ya da çift zincirde DNA'nın 3'hidroksil ucuna rastgele deoksiribonükleotidler (dUTP) ekler ve eklenen dUTP'lerin ölçümü flowsitometri tekniği ile ölçülür veya floresan mikroskop ile değerlendirilir (8).

Tek Hücre Elektrofrez (COMET analizi) Yöntemi

Tek hücre elektrofrez yöntemi sperm DNA kırıklarının doğrudan değerlendirildiği, erkek infertilitesini belirlemede kullanılan hassas bir yöntemdir. Bu yöntem nötral ya da alkali ortamda yapılabilir. Nötral tamponda sadece çift zincir kırıkları tespit edilebilirken, alkali tamponlarda hem çift zincir hem de tek zincir kırıkları tespit edilebilmektedir. Yöntemin çalışma prensibi farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektriksel yüklere bağlı olarak DNA moleküllerinin göç etmesine dayanır. Agaroz jel içinde DNA ince bir tabaka halinde yayılıp deterjan ve yüksek tuz konsantrasyonunda eritilir. DNA'nın katlanmasını sağlayan protamin ve histonlar ortamdan uzaklaştırılmış olur. Alkali tampon DNA'nın çift zincirinin katlanmasını engeller. Elektroforetik yürümede hasarsız DNA'larda kuyruk oluşmazken hasarlı DNA'da farklı molekül ağırlığı ve farklı elektriksel yükte olduğundan kuyruklu yıldız görüntüsü oluşmaktadır. Hücreler floresan DNA bağlayıcı boya ile boyanıp daha sonra görüntülemesi yapılır. Bu görüntüleme skorlanarak hasar miktarı tespit edilir (9).

Sperm Kromatin Yapı Analizi (SCSA)

Bu yöntem yapısal anomali bulunan spermilerin asit ve ısıya duyarlılığının daha fazla olduğu ve daha kolay denatüre olduğu fikrine dayanır. Akridin oranj boyasının metakromatik özelliklerinden yararlanır ve sperm DNA'sının in situ ısı ve asit kaynaklı denatürasyona karşı duyarlılığını ölçer. Bu yöntemle kırmızı renk ışına yapan tek sarmal DNA'ların oranı

(630 nm), yeşil renk ışına yapan çift sarmal DNA'lara oranı (515-530 nm) flowsitometride ölçülür (10).

Flow Sitometrik Analiz

Bu yöntemde akridin oranj (AO) boyası eklendikten sonra numune fluorescence-activated cell sorting (FACS) akışkan sitometri cihazına yerleştirilir. FlowJo yazılımı kullanılarak sperm hücreleri geçirildikten sonra X (kırmızı floresan) ortalaması ve Y (yeşil floresan) ortalaması kaydedilir. Propidyum iyodür eklenir ve DNA'nın fragmente bölgelerine boyanın bağlanması sağlanır (11).

Akridin Oranj Testi

DNA denatürasyon oranının belirlenmesinde yeşilden kırmızıya metakromatik kaymanın gözlemlendiği SCSA benzeri değerlendirme yapılır. Asit uygulaması sonrası denatürasyon oranı belirlenir. Normal yapıdaki DNA yeşil floresan verirken denatüre DNA kırmızı renkte floresan verir (12).

Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH)

Yöntemi

Bu yöntemde agaroz matrikse gömülmüş ya da lam üzerine fikse edilmiş hücreler denatürasyon amacıyla alkali solüsyona maruz bırakılır. Çift sarmal yapı açılır ve tek sarmal DNA oranı artar. DNA fragmentasyonunun artması tek sarmal DNA miktarını artırır. Histon ve protamin proteinleri uzaklaştırılan DNA'ya floresan işaretli problemlerle in situ hibridizasyon yapılır. Böylece in situ olarak DNA kırıklarının oranı belirlenmiş olur (13).

O'Neill ve arkadaşlarının çalışmasında intrauterin inseminasyon uygulanarak gebelik elde edilememiş, açıklanmayan infertil çiftler dahil edilerek sperm kromatin yapısal genomik bütünlük bakımından TUNEL yöntemiyle incelenmiştir. SDF saptanmayan çiftlerde klasik in vitro fertilizasyon (IVF) yapılırken, SDF saptananlarda intrasitoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI) yöntemine başvurulmuş. SDF saptanmayan klasik IVF yöntemi ile

gebelik elde edememiş hastalara bir sonraki tedavi için ICSI yöntemi önerilmiştir. Ejekülat sperm ile ICSI uygulanan ve gebelik elde edilemeyen hastalara ise bir sonraki tedavi için testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) yöntemiyle sperm elde edilerek ICSI uygulanması önerilmiştir. Kromatin bütünlüğü için ayrıca SCSA yapılmıştır. Ejekülat spermier TESE spermi karşılaştırıldığında TESE sperminde SDF oranının normal sınırlarda olduğu saptanmış, TESE ile alınan spermle gebelik oranlarının arttığı tespit edilmiştir (14).

Cinthia ve arkadaşları ise SCD testinin DNA fragmentasyonunun belirlenmesinde TUNEL yöntemine göre daha başarılı olduğunu göstermişler (15). Postmayotik apoptoz yetersizliği, spermiyogenez sırasında iplik kopmaları ve oksidatif stres DNA hasarlarına sebep olabilmektedir (16). DNA hasarı olmasına rağmen bazı hücreler fertilizasyon yeteneğini kaybetmez ancak kusurlu yavrular oluşmasına neden olabilir. Ayrıca sperm DNA hasarı infertilite ve IVF başarısızlığıyla ilişkilendirilir. Sperm DNA hasarı ile IVF ve ICSI sonrası gebelik kayıpları arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (17).

Bareh ve arkadaşları gebelik kaybı yaşayan açıklanamayan infertil çiftlerde normospermik erkeklerin sperm DNA fragmentasyonu yönünden değerlendirilmesi için yaptığı prospektif çalışmada her bireyden iki kez sperm örneği almış ve DNA fragmentasyonu yönünden hem TUNEL yöntemiyle hem de flowsitometrik incelemeyle deney ve kontrol grubunu incelemiştir. TUNEL testi sonuçları arasında açıklanamayan infertilitesi olan örneklerde SDF oranının fazla olduğunu göstermiştir (11). Paternal genomun bütünlüğü gebeliğin oluşumu ve sürdürülmesi için büyük önem taşır (18). DNA kalitesi düşük olan anormal spermatozoalar embriyo klivajını engelleyebilir ve blastosist oluşumunu etkileyebilir (19).

KAYNAKLAR

1. Speroff L, Glass RH, Kase NG. Infertility. In: Taylor HS, PaL, Sell E, editors. Speroff's Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility içinde. 9th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins Press; 2019. p.26-9.
2. Satar DA, Gençdal S. Sperm Değerlendirmesi. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi 2013; 22(4):532-42. doi: 10.17827/aktd.29343.
3. Collins JA, Crosignani PG. Unexplained infertility: a review of diagnosis, prognosis, treatment efficacy and management. Int J Gynecol Obstet. 1992;39(4):267-75. [https://doi.org/10.1016/0020-7292\(92\)90257-J](https://doi.org/10.1016/0020-7292(92)90257-J).
4. Kan Ö, Alkılıç A, Yüce T, Berker B. Açıklanamayan İnfertilitede Yönetim. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi. 2014; 23(3): 506-18. <https://doi.org/10.17827/aktd.93154>.
5. Ferlin A, Raicu F, Gatta V, Zuccarello D, Palka G, Foresta C. Male infertility: role of genetic background. Reprod Biomed Online. 2007;14(6):734-45. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60677-3](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60677-3).
6. Carrell DT, Liu L. Altered Protamine 2 Expression Is Uncommon In Donors of Known Fertility, but Common Among Men With Poor Fertilizing Capacity, and May Reflect Other Abnormalities of Spermiogenesis. J Androl. 2001;22(4):604-10.
7. Saleh RA, Agarwal A, Nada EA, El-Tonsy MH, Sharma RK, Meyer A, vd. Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility. Fertil Steril. 2003;79:1597-605.
8. Shamsi MB, Imam SN, Dada R. Sperm DNA integrity assays: diagnostic and prognostic challenges and implications in management of infertility. J Assist Reprod

- Genet. 2011;28(11):1073-85.
9. Pastuszek E, Kiewisz J, Skowronska P, Liss J, Lukaszuk M, Bruszczyńska A, vd. An investigation of the potential effect of sperm nuclear vacuoles in human spermatozoa on DNA fragmentation using a neutral and alkaline comet assay. *Andrology*. 2017;5(2):392-8.
 10. Evenson DP, Wixon R. Clinical aspects of sperm DNA fragmentation detection and male infertility. *Theriogenology*. 2006;65(5):979-91. doi:10.1016/j.theriogenology.2005.09.011.
 11. Barch GM, Jacoby E, Binkley P, Chang T “Arthur”, Schenken RS, Robinson RD. Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation assessment in normozoospermic male partners of couples with unexplained recurrent pregnancy loss: a prospective study. *Fertil Steril*. 2016;105(2):329-36.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.10.033.
 12. Küçük N. Sperm DNA and detection of DNA fragmentations in sperm. *Türk J Urol*. 2018;44(1):1-5.
 13. Singh NP, Muller CH, Berger RE. Effects of age on DNA double-strand breaks and apoptosis in human sperm. *Fertil Steril*. 2003;80(6):1420-30. doi:10.1016/j.fertnstert.2003.04.002.
 14. O’Neill CL, Parrella A, Keating D, Cheung S, Rosenwaks Z, Palermo GD. A treatment algorithm for couples with unexplained infertility based on sperm chromatin assessment. *J Assist Reprod Genet*. 2018;35(10):1911-7. doi:10.1007/s10815-018-1270-x.
 15. Feijó CM, Esteves SC. Diagnostic accuracy of sperm chromatin dispersion test to evaluate sperm deoxyribonucleic acid damage in men with unexplained infertility. *Fertil Steril*. 2014;101(1):58-63. e3. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.09.002.
 16. Hamada A, Esteves SC, Nizza M, Agarwal A. Unexplained Male infertility: diagnosis and Management. *Int Braz J Urol*. 2012;38(5):576-94. doi: 10.1590/s1677-55382012000500002.
 17. Robinson L, Gallos ID, Conner SJ, Rajkhowa M, Miller D, Lewis S, vd. The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*. 2012;27(10):2908-17.4
 18. Agarwal A, Zini A, Sigman M. Is Sperm DNA Integrity Assessment Useful? *Journal of Urology*. 2013;190(5):1645-7. https://doi.org/10.1016/j.juro.2013.08.004
 19. Pons-Rejraji H, Artonne C, Sion B, Brugnon F, Canis M, Janny L, vd. Prostatosomes: inhibitors of capacitation and modulators of cellular signalling in human sperm. *Int J Androl*. 2011;34(6pt1):568-80. doi: 10.1111/j.1365-2605.2010.01116.x.

İnsan Rekombinant Nano-Antikor Yapılarından Kanser Tanısı ve Tedavisine Yönelik Etken Madde Geliştirilmesi

Nurşah ERSEZEN¹, Bertan Koray BALCIOĞLU², Aylin ÖZDEMİRBAHADIR², Melis DENİZCİ ÖNCÜ², Hasan Ümit ÖZTÜRK², Müge SERHATLI², Filiz KAYA², Hilal YAZICI², Berrin ERDAĞ³

Öz

Bu çalışmada, faj gösterim teknolojisi ile yüksek çeşitliliğe sahip saf insan ağır zincir değişken bölge (VH) nano-antikor kütüphanesi oluşturulması ve buradan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü'ne (EGFR) spesifik yapıların seçiliminin gerçekleştirilerek kanser tanı ve tedavisinde kullanılabilecek aday moleküllerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, sağlıklı insan periferik kanından izole edilen total RNA'dan cDNA sentezi yapıp, bu kalıp üzerinden insan VH antikor genlerine spesifik primerler kullanılarak VH antikor genleri polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemiyle çoğaltılmıştır. Antikor kütüphanesi fajmid vektöre klonlandıktan sonra *Escherichia coli* (*E. coli*) amber supresör TG1 bakterilerine transforme edilmiştir. Enfektif fajların oluşumu sağlandıktan sonra faj eldesi yapıp EGFR'ye afinite gösteren yapılar biyopanning döngüleri ile seçilmiştir. 3 biyopanning döngüsü sonrasında rastlantısal olarak seçilen 60 farklı klonun antikor geni içerip içermediği PZR ile kontrol edilmiştir. Antikor geni tespit edilen 34 adet klonun EGFR'ye bağlanma afiniteleri faj-ELISA yöntemiyle değerlendirilmiştir. Değerlendirilen klonlardan 6 tanesinin EGFR'ye bağlanma afinitelerinin negatif kontrol olan BSA proteinine kıyasla 2 kattan fazla olduğu; 1 klonun ise 1.8 kat fazla olduğu görülmüştür. İleriki çalışmalarda burada belirlenen klonların karakterizasyonlarına devam edilmesi ve nano-antikor yapılarının üretimlerinin gerçekleştirilmesi planlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Monoklonal antikorlar, Nano-antikorlar, Faj gösterim teknolojisi, Epidermal büyüme faktörü reseptörü

Development of an Active Substance from Human Recombinant Nano-Antibody Constructs For the Diagnosis and Treatment of Cancers

Abstract

In this study, construction of high diversity naive human heavy chain variable region (VH) nano-antibody library with phage display technology and the selection of specific structures against to Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) were aimed for the development of candidate

¹Gebze Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

²TÜBİTAK, Marmara Araştırma Merkezi, Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü

³İstanbul Aydın Üniversitesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Yazışma Adresi: Dr. Berrin ERDAĞ, İstanbul Aydın Üniversitesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Florya Yerleşkesi, Beşyol Mah. İnönü Cad.No:38Sefaköy-Küçükçekmece/İSTANBUL e-posta: berrinerdag@aydin.edu.tr, ORCID ID: 0000-0003-2241-1540

Geliş Tarihi: 28 Temmuz 2020 - Kabul Tarihi: 8 Ekim 2020

DOI: 10.17932/IAU.TFK.2018.008/tfk_v03i3002

molecules in cancer diagnosis and treatment. For this purpose, RNA isolation was done from healthy human peripheral blood cells and cDNA was synthesized. From this template, VH antibody genes were amplified by PCR using primers specific to human VH antibody genes. Antibody library was cloned into the phagemid vector and transformed into *Escherichia coli* (*E. coli*) amber suppressor TG1 strain. After the formation of infective phages, they were rescued and selection of EGFR-specific constructs was performed with biopanning cycles. After 3 rounds of biopanning, randomly selected 60 clones were controlled by PCR whether the presence of antibody gene. 34 clones which have antibody gene were controlled by phage-ELISA for the determination of their specificity against to EGFR. As a result, EGFR binding affinities in 6 clones were more than 2-fold and in 1 clone was more than 1.8 fold when compared to the negative control, BSA protein. In the further studies, characterization of these selected clones and expressions of nano-antibody molecules will be performed.

Key Words: Monoclonal antibodies (Mabs), Nano-antibodies, Phage display technology, Epidermal growth factor receptor (EGFR)

Giriş

Monoklonal antikorlar tek bir B hücre klonu tarafından oluşturulan, hedefledikleri yapıya bağlanarak hedefin bloklanmasını veya çeşitli mekanizmalarla elimine edilmesini sağlayan etkili moleküllerdir (1,2). Hedef yapıya karşı yüksek spesifisite ve afinite göstermeleri dolayısıyla etkinin sağlıklı hücreler yerine sadece hedef alınan hastalıklı hücrelerde görülmesini sağlarlar, bu sayede düşük yan etki gösterirler. Bu sebeple kanser gibi birçok hastalıkta avantaj sağlamaktadırlar ve günümüzde tanı, tedavi, biyogörüntüleme gibi çeşitli amaçlarla kullanılabilirler (1,3). Günümüzde monoklonal etken maddeli ilaçlar çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın şekilde kullanılmaktadır (4). İlk olarak geliştirilen fare kökenli antikorların insanlarda immün reaksiyona sebebiyet verdiği görülmüştür. Bu sebeple zaman içerisinde oluşturulan antikorların fare kökeni azaltılarak insanlaştırılması hatta tamamen insan kökenli antikorların geliştirilmesi üzerine çalışılmıştır (4,5).

Antikor mühendisliğinin gelişmesi zaman içerisinde bütün bir IgG yapısının yerine bu yapıdan daha avantajlı olabilecek, scFv, Fab, nanobody, diabody gibi daha küçük boyutta farklı formatların oluşturulabilmesini sağlamıştır (6). Nanobodies (VHH), kamelidlerde (devegillerde) doğal olarak

oluşan HCAb ağır zincir antikorlarının antijen tanımadan sorumlu olan değişken bölgeleridir ve spesifik antijene bağlanma için gerekli potansiyele sahip en küçük ve fonksiyonel birimdir. Yaklaşık olarak 12-15 kDa büyüklüğünde, 4 nm uzunluğunda ve 2.5 nm çapındadırlar (7-9). Oldukça küçük boyutlu olmalarına ek olarak, yüksek stabilite ve çözünürlüğe sahip olmaları ve mikrobiyal sistemlerde, faj gösterim teknolojisi gibi yöntemlerle kolayca üretilmelerini dolayısıyla avantajlara sahiptirler. Bunlara ek olarak, etkili ve esnek antijen tanıma bölgelerine sahip olmaları konvansiyonel IgG antikorlarının nüfuz edemediği bölgelere etki etmelerine olanak sağlamaktadır. Yapılan çalışmalar VHH yapılarının insan VH3 gen ailesiyle %80'nin üzerinde benzerliğe sahip olduğunu ortaya koymuştur ve bu durum VHH'lerin tedavi amaçlı uygulamalarının insanlarda düşük immünojenisite riski gösterebileceğini desteklemektedir (8-11). VHH yapılarının çoklu birimler halinde üretilmesi veya farklı yapıları hedefleyen VHH'lerin füzyon edilmesi de sağlanabilmektedir. Bunun yanında, VHH'ler ilaç taşıyan nanopartiküllerle konjugasyon veya Fc antikor bölgesi ile füzyon yapılabilmektedir. Bu yollarla tedavi etkinliğinin artırılması sağlanabilmektedir (10,12-14).

Monoklonal antikor geliştirmede sıklıkla

yararlanılan bir yöntem olan faj gösterim teknolojisi, (poli) peptid yapılarının filamentöz bakteriyofaj yüzeyinde sunulmasını sağlayan bir tekniktir. Faj fenotipinin doğrudan enkapsüle haldeki faj genotipine bağlı olmasına dayanan bu teknik ilk olarak 1985 yılında George P. Smith'in, yabancı DNA fragmanlarını filamentöz bakteriyofajın pIII kılıf proteinini kodlayan gen III bölgesine füzyon etmesi sonucu ortaya çıkmıştır. Bu sayede enfektif virion oluşumu engellenmeksizin, yabancı DNA'nın kodladığı (poli) peptid yapısı filamentöz fajın yüzeyinde sunulmaktadır (15). Faj gösterim teknolojisiyle, antikor genlerini kodlayan (poli) peptid yapılarının kapsid yapısında sunulmasının ardından, spesifik bir hedefe karşı seçilimi ve çoğaltılmasıyla, yüksek afinite ve aviditeye sahip, belirli bir hedef moleküle spesifik yapıların seçilimi sağlanabilmekte ve immünizasyon gerekmeksizin antikor geliştirilmesi sağlanabilmektedir (16,17). Diğer bir deyişle, immün sistemin *in vitro* ortamda taklit edilmesi olarak düşünülebilecek faj gösterim teknolojisi ile immün sistemin B hücrelerinin yüzeyinde sunulan her biri farklı özellikteki antikorların bakteriyofaj yüzeyinde sunulması ve yine immün sisteme benzer şekilde belirli bir hedefe bağlanan fajların seçilimi sağlanabilmektedir. Sonrasında, istenen hedefe spesifik antikorların çözünümlük olarak üretimi gerçekleştirilir (18).

Geleneksel kanser tedavisinde kullanılan kemoterapi ilaçları, kanser hücrelerinin yanında sağlıklı hücrelere de zarar vermekte ve hasta üzerinde birçok yan etkiye sebep olabilmektedir. Buna karşın monoklonal antikorlar kanser hücrelerinde gözlenen farklılıkları hedef alarak; sağlıklı hücreler yerine sadece kanser hücrelerine etki etmektedirler. Monoklonal antikorlar, çoğunlukla kanser hücrelerinde aşırı anlatımı bulunan protein ve reseptör gibi yapıları hedef alarak inaktive eder ve bu sayede kanser hücrelerinin büyümesini engelleyerek anti-kanser etki göstermiş olurlar. Monoklonal

antikorlar, hücre dışındaki molekülleri hedef alabileceği gibi; hücre içindeki moleküllere karşı da oluşturulabilmektedir (19,20).

Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (Epidermal Growth Factor Receptor: EGFR, HER1, ErbB1), ErbB tirozin kinaz reseptörleri ailesine ait bir transmembran glikoproteinidir ve EGF ailesine ait peptid büyüme faktörlerinin bağlanmasıyla aktive olmaktadır (21-23). EGFR aktivasyonu proliferasyon, canlılık, farklılaşma, migrasyon, anjiyogenez, gen ekspresyonu, apoptoz inhibisyonu, adezyon ve metastazda önemli olan birçok hücreyel yolağın ve transkripsiyon faktörünün aktive edilmesinde görev alır ve yapılan çalışmalar EGFR'nin birçok kanser türünde mutasyona uğradığını veya normalden fazla eksprese edildiğini göstermiştir. Bu sebeple, kanser tedavisi ve tanısı açısından büyük öneme sahiptir ve günümüzde EGFR hedefli monoklonal antikor geliştirilmesi üzerine yoğun şekilde çalışmalar mevcuttur (21,24).

Bu çalışmada, faj gösterim teknolojisiyle saf insan VH antikor kütüphanesi oluşturulması ve bu kütüphane içerisinden EGFR'ye spesifik yapıların seçilerek kanser tedavisinde kullanılmak üzere anti-EGFR nano-antikoru geliştirilmesi hedeflenmiştir. EGFR'ye karşı geliştirilen birçok IgG formatında antikor olmasına ve birçok kamelid kökenli VHH nanobody çalışmaları olmasına karşın bu çalışma ile geliştirilmesi planlanan insan nano-antikor yapılarıyla insan nano-antikorlarının kanser tanı ve tedavisindeki potansiyellerinin araştırılması ve diğer antikor formatlarıyla karşılaştırmalı analizlerinin gerçekleştirilebilmesi sağlanabilecektir. Ayrıca bu çalışmada immünizasyon olmaksızın oluşturulan antikor kütüphanesinin saf olması dolayısıyla bu kütüphanenin ileride birçok farklı hedefe karşı nanobody temelli antikor geliştirilmesinde de kullanılabilmesi mümkün olacaktır.

Gereç ve Yöntem

Total RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi

Antikor genlerinin oluşturulmasında kaynak olarak insan periferel kan örneği kullanılmıştır. İnsan periferel kan örneği EDTA'lı tüpe alındıktan hemen sonra total RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Quick-RNA Whole Blood Kiti (Zymo Research, Irvine, ABD) kullanılmıştır. İzolasyon kit protokolüne göre gerçekleştirilmiştir. Sonrasında elde edilen RNA üzerinden cDNA sentezi Super Script III First Strand Sentez Sistemi (Thermo Scientific, Massachusetts, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

İnsan Ağır Zincir Antikor Kütüphanesinin Oluşturulması

İnsan VH antikor genlerinin çoğaltılması amacıyla cDNA kalıp olarak kullanılarak, farklı VH gen ailelerine spesifik primerler ile PZR döngüleri gerçekleştirilmiştir. Antikor genleri oluşturulduktan sonra pürifikasyonları sağlanmıştır. Antikor genlerinin vektöre klonlanabilmesi için, oluşturulan antikor genleri kalıp DNA olarak kullanılarak ilk aşamada kullanılan ileri primer dizilerine *SfiI*, geri primer dizilerine ise *NotI* restriksiyon enzim kesim bölgesi eklenmiş primerler ile tekrar PZR döngüleri gerçekleştirilmiştir. Enzim olarak tüp başına 1 U/ μ L GoTaq polimeraz enzimi (Promega, Wisconsin, ABD) kullanılmıştır. Kalıp DNA'lar tüp başına 100 ng olarak kullanılmıştır. PZR'de öncelikle 94°C 2 dk. başlangıç denatürasyonu yapılmış, sonra denatürasyon 94°C 1 dk., birleşme kullanılan primerlere uygun sıcaklıkta 2 dk., uzama 72°C 2 dk. olarak 30 döngü yapılmış ve son uzama olarak 72°C 10 dk. ile tamamlanmıştır. %1.2'lik agaroz jelde kontrol edilen örnekler daha sonra 4 farklı set halinde (6900, 6901, 6902, 6903) bir araya getirilmiş, *SfiI* ve *NotI* enzimleri ile kesilip pCANTAB6 fajmid vektörüne klonlanmıştır. Ligasyonda T4 DNA ligaz enzimi (Thermo Scientific, Massachusetts, ABD) kullanılmış ve vektör: DNA molar oranı 1:6 olarak uygulanmıştır. Rekombinant fajların üretimi amacıyla, vektöre klonlanan

antikor kütüphanelerinin *E. coli* amber supresör TG1 bakteri suşuna transformasyonu gerçekleştirilmiş ve bu kütüphaneleri içeren bakteriler bir araya getirilerek 100 μ g/mL ampisilin varlığında Luria-Bertani (LB) besiyeri içerisinde kültür edilmiştir. Daha sonra bu bakteri kültürü faj eldesi işlemlerinde kullanılmıştır.

Enfektif Fajların Elde Edilmesi

Antikor kütüphanesini içeren bakteriler 100 μ g/mL ampisilin içeren maya özütü-tripton (2xTY) besiyeri ortamında 37°C'de 220 rpm'de çalkalanarak optik dansite 600 (OD600) değeri 0.5-0.8 oluncaya kadar büyütülmüştür. OD beklenen değere ulaştığında bu kültürden belirli bir miktarda alınarak 100 μ g/mL ampisilin ve %2 glikoz içeren taze 2xTY besiyeri ortamına inoküle edilmiştir ve enfektif faj oluşumunu sağlamak amacıyla 10^9 pfu M13K07 yardımcı fajı ilave edilmiştir. Kültür, 37°C'de 45 dk. çalkalanmaksızın ve 45 dk. 220 rpm'de çalkalanarak büyütülmüştür. Süre sonunda bakteriler 4000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilerek çöktürülmüş, pellet 100 μ g/mL ampisilin ve 50 μ g/mL kanamisin içeren taze 2xTY besiyeri ile çözülüp gece boyu 37°C'de çalkalanarak büyütülmüştür. Süre sonunda kültür 8000 rpm'de 10 dk. santrifüjlendikten sonra süpernatant temiz bir tüpe alınıp üzerine ¼ hacimde PEG-6000/2.5 M NaCl eklenerek 2 saat buz içerisinde inkübe edilmiştir. İnkübasyon bitiminde 8000 rpm 4°C'de 40 dk. santrifüj edildikten sonra pellet steril su ile çözülmüş ve 12000 rpm'de 10 dk. tekrar santrifüj edilip süpernatant temiz bir tüpe aktarıldıktan sonra ¼ hacimde PEG-6000/2.5 M NaCl eklenerek 45 dk. buz içerisinde inkübe edilmiştir. Süre sonunda 12000 rpm'de 30 dk. 4°C'de santrifüj yapılarak elde edilen pellet 1 mL steril 0.01 M fosfat tamponlu salin (PBS) ile çözülüp, ependorfa alınarak 13000 rpm'de 2 dk. santrifüj edilerek kalıntılar uzaklaştırıldıktan sonra fajları içeren sıvı faz temiz bir tüpe alınmıştır. Elde edilen fajların konsantrasyonu seri dilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir.

Faj Titrasyonu

Faj veriminin belirlenmesi amacıyla, elde edilen faj stoğundan 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-8} , 10^{-10} olacak şekilde dilüsyonlar hazırlanmış ve hazırlanan her bir dilüsyondan 10 µL alınarak, minimal plate'te büyütülmüş OD600 değeri 0.5 olan 100 µL TG1 bakterisi ile bir araya getirildikten sonra 30 dk. 37°C'de inkübe edilmiştir. Süre sonunda her bir dilüsyon 100 µg/mL ampisilin içeren LB agarplate'e yayma yöntemi ile ekildikten sonra plateler 37°C'de gece boyu büyütülmeye bırakılmıştır. Ertesi gün oluşan koloniler sayılarak faj konsantrasyonu belirlenmiştir.

Biyopanning Döngüleri

Konsantrasyonu belirlenen faj stoğundan EGFR'ye spesifik olan nano-antikor yapılarının seçilimi amacıyla biyopanning döngüleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Nunc Maxisorp immüno plateler 1 µg EGFR (Peprotech, ABD) içeren 0.1 M NaHCO₃ ile kaplanarak gece boyu 4°C'de inkübe edilmiştir. Ertesi gün kuyular 3 kere PBS ile yıkandıktan sonra %1 Bovin Serum Albumin (BSA) içeren 0.01 MPBS eklenerek 2 saat 37°C'de bloklanmıştır. Süre sonunda tüpler 3 kere PBS ile yıkandıktan sonra blokama tamponu ile seyreltilen fajlar 1×10^{10} pfu olacak şekilde tüpe eklenmiş ve oda sıcaklığında 30 dk. boyunca çalkalanarak 90 dk. çalkalamadan inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Tüpler 60 kere %0.1 Tween-20 içeren TPBS ile, 60 kere PBS ile yıkandıktan sonra OD600 değeri 0.5-0.8 olan TG1 bakterileri eklenerek 37°C'de 30 dk. inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Süre sonunda, biyopanningden elde edilen faj çıktısının belirlenmesi amacıyla alınan örnekler ampisilin içeren LB agar platelere yayım yapılarak 37°C'de gece boyu büyütülmüştür. Kuyuda kalan enfekte olmuş bakteriler ise 100 µg/mL ampisilin içeren 2xTY besiyerine alınarak gece boyu 37°C'de 220 rpm'de çalkalanarak büyütülmüş ve sonraki biyopanning döngüsüne girmek üzere yardımcı faj ile amplifikasyonları sağlanmıştır.

Koloni PZR

3. biyopanning döngüsü sonrasında rastlantısal olarak seçilen 60 koloni PZR ile antikor geninin varlığı açısından kontrol edilmiştir. Bu amaçla steril su içeren tüplere inoküle edilen koloniler 95°C'ye ısıtılmış termal blokta 3 dk. bekletildikten sonra tüpler 13000 rpm'de 1 dk. santrifüjlenmiş ve süpernatantlar PZR'de kalıp DNA olarak kullanılmıştır. Koloni PZR'de, vektörün çoklu klonlama bölgesinin uç kısımlarına spesifik olan 459 ve 458 primerleri kullanılmıştır. Enzim olarak 1 U/µL MyTaq polimeraz (Bioline, ABD) kullanılmıştır. PZR döngüleri, denatürasyon 94°C 1 dk., birleşme 55°C 2 dk., uzama 72°C'de 2 dk. olacak şekilde 30 döngü ve son uzama 72°C'de 10 dk. olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

Faj-ELISA

Panning döngüleri sonrası platelerdeki kolonilerin, EGFR'ye bağlanma afinitelerini belirleyebilmek amacıyla faj-ELISA gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, incelenecek koloniler ampisilin varlığında LB besiyerinde gece boyu büyütüldükten sonra başlangıç hacminin 1/100'i oranında alınıp 100 µg/mL ampisilin ve %2 glikoz içeren 2xTY besiyerine inoküle edilmiştir. 30°C'de 220 rpm'de büyütülen bakteriler, OD600 değeri 0.5'e ulaşıncaya 3000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilmiştir. Pelletler tekrar ampisilin ve glikoz içeren taze 2xTY besiyerinde çözüldükten sonra 2×10^9 pfu M13K07 yardımcı fajı eklenerek 37°C'de 220 rpm'de 1 saat büyütülmeye devam edilmiştir. Süre sonunda aynı koşullarda santrifüj yapıldıktan sonra pellet 100 µg/mL ampisilin ve 50 µg/mL kanamisin içeren 2xTY besiyerinde çözüldükten sonra 30°C'de 250 rpm'de çalkalanarak gece boyu büyütülmüştür. Ertesi gün kültür 8000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildikten sonra süpernatant faj-ELISA'da kullanılmıştır. ELISA'da kullanılacak Nunc Maxisorp plate kuyuları 100 ng/kuyu EGFR içeren 0.1 M NaHCO₃ kaplama tamponu ile kaplanarak, gece boyu 4°C'de bekletilmiştir. Rekombinant fajların, bloklamada kullanılacak

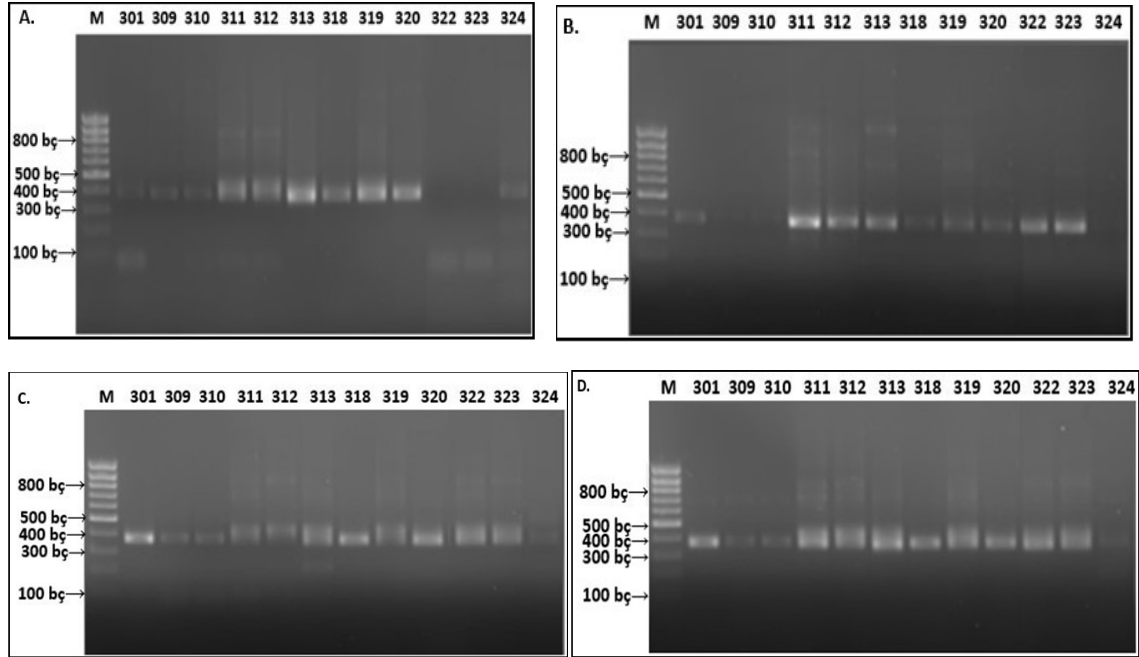
olan BSA proteinine bağlanıp bağlanmadığını kontrol etmek amacıyla eşit miktarda kuyu %1 BSA içeren kaplama tamponuyla kaplanmıştır. Ertesi gün kaplama tamponu döküldükten sonra kuyular 1 kere PBS ile yıkayıp, %1 BSA içeren bloklama tamponu eklenerek oda sıcaklığında 2 saat bloklama yapılmıştır. Süre sonunda kuyular 3 kere %0.1 Tween-20 içeren PBS ile, 3 kere de PBS ile yıkama yapıldıktan sonra faj süspansiyonları bloklama tamponuyla seyreltilerek kuyulara eklenmiş 2 saat oda sıcaklığında inkübasyon yapılmıştır. Kuyular 5 kere TPBS ile 5 kere PBS ile yıkandıktan sonra her bir kuyuya bloklama tamponu içerisinde 1:5000 oranda seyreltilmiş anti-M13 HRP konjugatından (GE Healthcare, Illinois, ABD) eklenerek, 1 saat oda sıcaklığında inkübasyon yapılmıştır. İnkübasyon sonrasında 3 kere TPBS, 3 kere PBS yıkaması yapılarak, renk reaksiyonunun oluşması için her kuyuya

ABTS eklenmiş ve plate 1 saat ışıktan korunarak bekletildikten sonra ELISA plate okuyucusunda (Biotek, Vermont, ABD) 405 nm’de absorbans ölçümü yapılmıştır. ELISA’da negatif kontrol olarak fajların büyütüldüğü besiyeri kullanılmıştır. Tüm örnekler 3 tekrarlı olarak kontrol edilmiştir.

Bulgular

İnsan Ağır Zincir (VH) Antikor Genlerinin Oluşturulması

İnsan VH antikor genlerinin oluşturulması için gerçekleştirilen PZR döngüleri sonucunda yaklaşık olarak 350-400 baz çifti büyüklüğünde olan insan VH antikor gen parçalarının oluşturulduğu görülmüştür. Bazı örneklerde antikor gen fragmanlarına ek olarak, spesifik olmayan smear benzeri kirlilikler görülmüştür. Antikor genlerine ait agaroz jel görüntüleri Şekil 1’de gösterilmektedir.



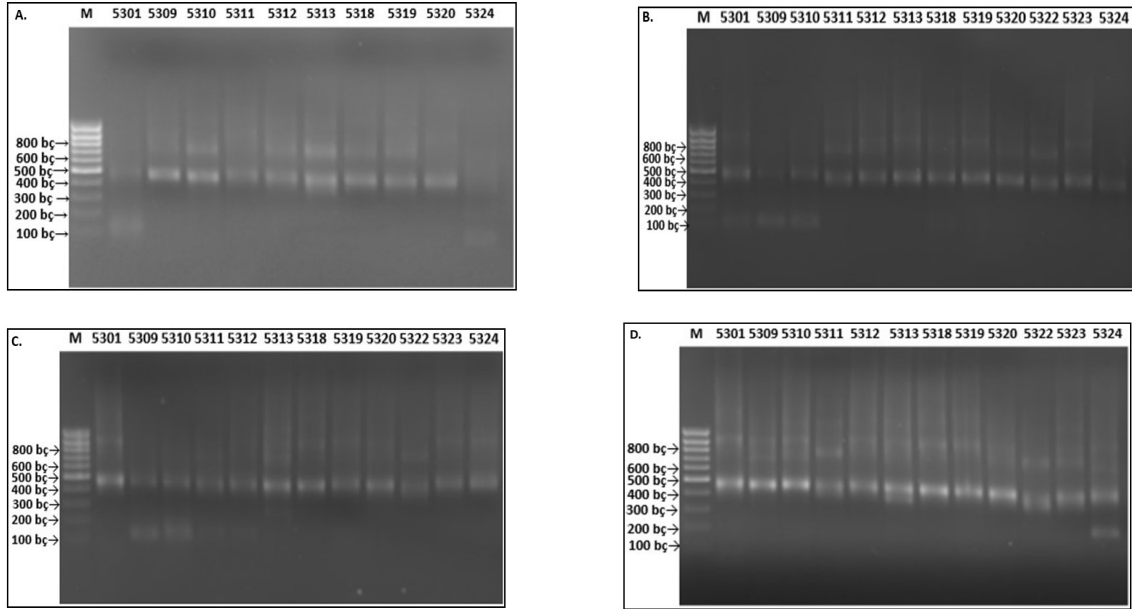
Şekil 1: (A.) 900, (B.) 901, (C.) 902 ve (D.) 903 geri primerleri ile ileri primer kombinasyonlarının PZR görüntüleri

Antikor genlerinin fajmid vektöre klonlanabilmesi amacıyla ilk aşamada elde edilen her bir antikor geni kalıp olarak

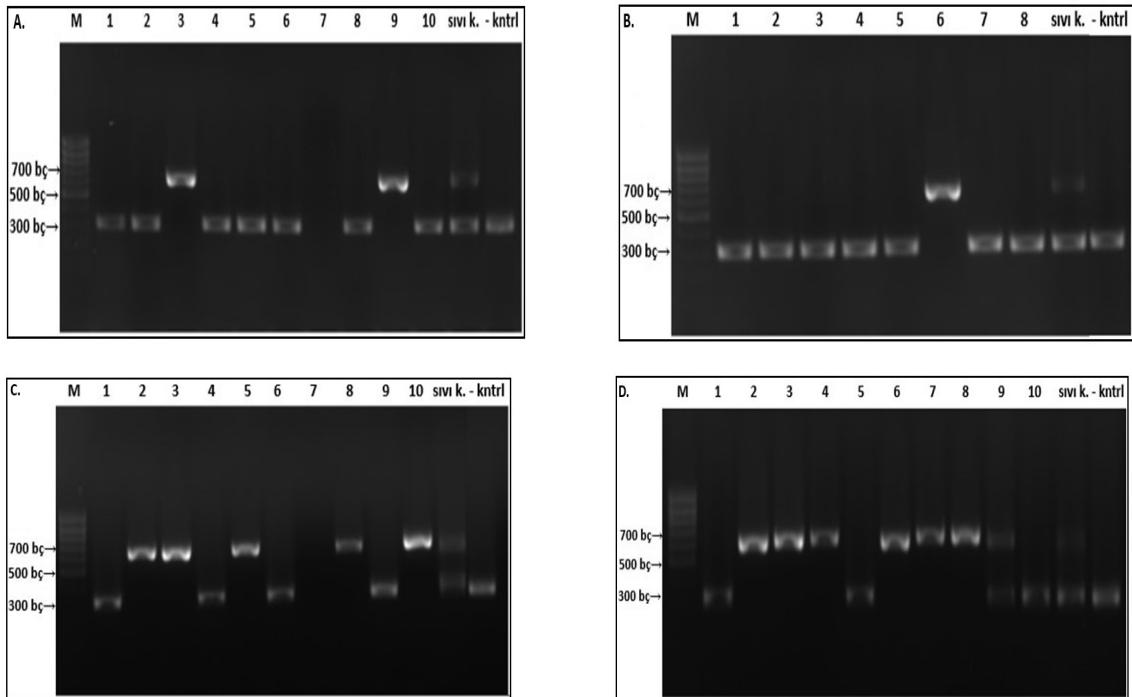
kullanılarak, ilk PZR döngülerinde kullanılan primerlerin SfiI/NotI restriksiyon enzim dizisi eklenmiş olan versiyonlarıyla gerçekleştirilen

PZR döngüleri sonucunda yaklaşık olarak 400-500 baz çifti büyüklüğünde, ilk PZR setlerinden daha büyük olan bantlar gözlenmiştir. Bu

örneklerin bazılarında da smear benzeri yapılar görülmüştür. PZR ürünlerinin agaroz jel görüntüleri Şekil 2’de gösterilmektedir.



Şekil 2: (A.) 6900, (B.) 6901, (C.) 6902 ve (D.) 6903 geri primerleri ile ileri primer kombinasyonlarının PZR görüntüleri



Şekil 3: (A.) 6900, (B.) 6901, (C.) 6902 ve (D.) 6903 kütüphanelerinin TG1 bakterilerine transformasyonu sonrası koloni PZR görüntüleri

Antikor Kütüphanesinin Vektöre Klonlanması ve Bakterilere Transformasyonu

Bant izolasyonu ile elde edilmiş 4 farklı antikor geni seti pCANTAB6 fajmid vektörüne klonlanıp, *E. coli* TG1 bakterilerine transforme edildikten sonra platerlerden rastlantısal olarak seçilen transformant koloniler koloni PZR ile kontrol edilmiştir. Koloni PZR ile kontrol edilen kolonilerden bazılarındaki yaklaşık olarak 600-700 baz çifti büyüklüğünde olan antikor gen parçaları görülmüştür. Burada, kullanılan primerlerin vektöre spesifik diziler olmaları dolayısıyla PZR ürünleri uç kısımlarında vektörden gelen dizileri içermekte, dolayısıyla boyut artmış olmaktadır. Bazı kolonilerde ise yaklaşık olarak 300 baz çifti büyüklüğünde bantlar görülmüştür. Bu bantlar vektörün çoklu klonlama bölgesinden kaynaklanmakta, dolayısıyla antikor geni içermeyen kolonileri göstermektedir. Transformasyon sonrası gece boyu büyütülen sıvı kültürlerin ise bir havuz olmaları nedeniyle hem antikor geni içeren bantlara hem de sadece vektör

dizisi içeren bantlara sahip olduğu görülmüştür. Bunun yanında bazı örneklerde hiçbir bant görülebilmiştir. Agaroz jel görüntüleri Şekil 3'te gösterilmektedir.

Enfektif Faj Eldesi ve Biyopanning Döngüleri
Enfektif fajların elde edilmesinin ardından EGFR'ye spesifik rekombinant faj yapılarının seçilimi için biyopanning döngüleri gerçekleştirilmiştir. Biyopanning döngüleri 1×10^{10} pfu faj ile gerçekleştirilmiştir ve 3 tur biyopanning döngüsü sonrasında faj çıktısı 1.35×10^5 pfu/mL'ye ulaşmıştır. Faj veriminin beklenen düzeyde olması sebebiyle, panning döngüleri durdurulmuştur. Biyopanning döngülerine ait faj verimleri Tablo 1'de gösterilmiştir. 3. biyopanning sonrasında rastlantısal olarak seçilen 60 koloni PZR ile kontrol edilmiş, 34 koloninin antikor genini içerdiği gösterilmiştir. PZR sonuçlarına ait agaroz jel görüntüleri Şekil 4'te gösterilmektedir.

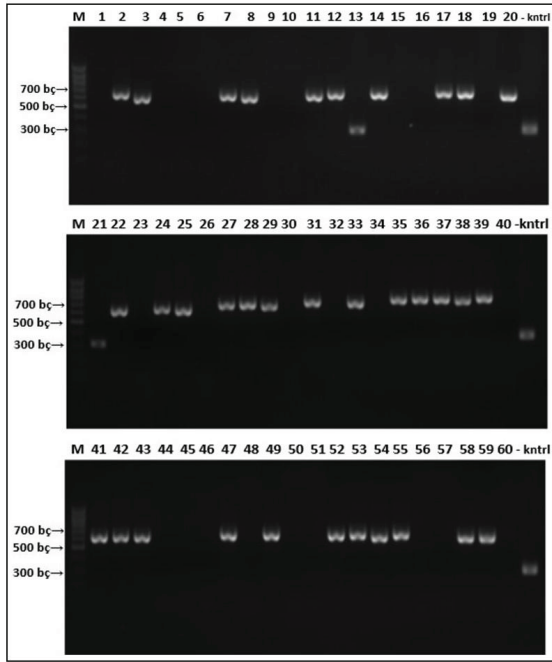
Tablo 1: Biyopanning faj verimleri

Biyopanning döngüsü	Faj girdisi (pfu)	Faj çıktısı (pfu)	Amplifikasyon sonrası (pfu)
			4×10^{11}
1	1×10^{10}	8.9×10^3	3×10^{11}
2	1×10^{10}	1.16×10^4	7.5×10^{11}
3	1×10^{10}	1.35×10^5	1.18×10^{12}

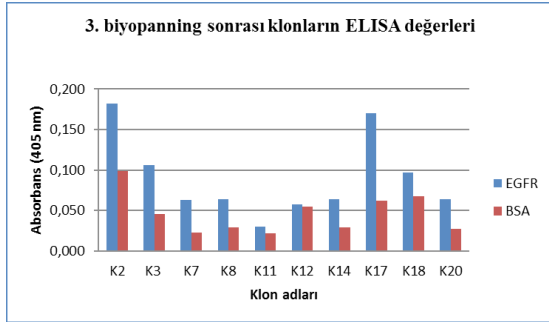
Faj ELISA

Biyopanningden elde edilen ve koloni PZR ile antikor genini taşıdığı tespit edilen 34 klonun EGFR'ye bağlanma afiniteleri faj-ELISA yöntemiyle değerlendirilmiştir. Değerlendirilen klonların bloklayıcı tamponunda kullanılan BSA proteinine bağlanıp bağlanmadığı da kontrol edilmiştir. Faj-ELISA sonucunda bazı klonların EGFR ve BSA proteinlerine benzer şekilde

bağlandığı görülürken K3, K7, K8, K14, K17, K20 klonlarının BSA'ya kıyasla EGFR'ye bağlanma afinitelerinin 2 kattan fazla olduğu; K2 klonunda ise 1.8 kat olduğu ve EGFR'ye bağlanmada en yüksek absorbanza sahip olduğu görülmüştür. Analiz edilen klonlardan 10 tanesinin EGFR ve BSA'ya bağlanma afinitelerine ait grafik Şekil 5'te gösterilmiştir.



Şekil 4: 3. Biyopanning döngüsü sonrası koloni PZR



Şekil 5: 3. Biyopanning sonrası faj klonlarının ELISA değerleri

Tartışma

Monoklonal antikorlar kanser başta olmak üzere birçok hastalığın tedavisi ve tanısı için oldukça önem arz etmektedir (1). Ancak yaklaşık 150 kDa büyüklüğünde olmaları, stabilite ve çözünürlüklerindeki problemler IgG formundaki bu antikorların tanı ve tedavideki kullanım potansiyellerini kısıtlayabilmektedir. Bu sebeple zaman içerisinde daha küçük yapıları antikor formatlarının geliştirilmesi üzerinde çalışılmıştır (6). Nanobodyler bu antikor fragmanlarından biridir. Ağır zincir antikorları devgillerde doğal olarak üretilen hafif zincir

içermeyen özgün antikorlardır. Bu yapılarıdaki antijen tanımadan sorumlu en küçük birim olan VHH nanobody yapıları hedef antijene karşı yüksek afinite gösteren ve 15 kDa boyutlarında olan oldukça küçük yapıları dolayısıyla tanı ve tedavi alanlarında yüksek potansiyele sahiptir. IgG yapısındaki antikorlara kıyasla küçük boyutları, yüksek stabilite ve çözünürlüğe sahip olmaları IgG antikorlarına kıyasla avantaj sağlamaktadır. Yapılan çalışmalar nanobodylerin aşırı koşullara dayanıklı olduğunu hatta denatürasyona uğrasalar bile tekrardan kolayca katlanabildiklerini göstermiştir (8-11). Ayrıca bu yapılar tek birimden oluştukları ve post-translasyonel modifikasyon içermemeleri dolayısıyla üretim konusunda da IgG antikorlarına karşı avantaj sağlamakta ve mikroorganizmalar kullanılarak kolayca üretilebilmektedir (8,11). Nanobodylerin bu avantajları dolayısıyla bu çalışmada saf insan VH nano-antikorlarının oluşturulması ve potansiyellerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda insan VH antikor genleri başarıyla çoğaltılmış ve fajmid vektöre klonlanarak saf insan VH antikor kütüphanesi oluşturulmuştur. Bunun ardından önemli bir kanser hedefi olan EGFR'ye spesifik olan yapıların seçilimi biyopanning döngüleri ile sağlanmıştır. Biyopanning döngüleri sonucunda elde edilen klonların EGFR'ye bağlanma potansiyelleri ELISA metoduyla değerlendirilmiştir. Sonraki çalışmalarda EGFR'ye spesifik olarak bağlandığı belirlenen klonların (K2, K3, K7, K8, K14, K17, K20) karakterizasyonlarının yapılması planlanmaktadır. Buna ek olarak burada oluşturulan insan VH nano-antikor kütüphanesi saf yapıda olması dolayısıyla yüksek çeşitliliğe sahiptir ve ilerleyen çalışmalarda bu kütüphane içerisinde farklı hedef yapılara karşı seçim yapılması da sağlanabilecektir.

*Çalışma kısmi olarak TUBİTAK 1007 113G100 nolu proje ile desteklenmiştir.

**İnsan periferik kan örneği için GOKAEK 2020/281 nolu etik kurul kararı mevcuttur.

KAYNAKLAR

1. Nelson PN, Reynolds GM, Waldron EE. Demystified: Monoclonal antibodies. *Mol Pathol* 2000; 53: 111–117.
2. Rajewsky K. The advent and rise of monoclonal antibodies. *Nature* 2019; 575: 47–49. doi:10.1038/d41586-019-02840-w
3. Suzuki M, Kato C, Kato A. Therapeutic antibodies: their mechanisms of action and the pathological findings they induce in toxicity studies. *J Toxicol Pathol* 2015; 28: 133–139. doi:10.1293/tox.2015-0031
4. Mahmuda A, Bande F, Al-Zihiry KJK, et al. Monoclonal antibodies: A review of therapeutic applications and future prospects. *Trop J Pharm Res* 2017; 16: 713–722. doi:10.4314/tjpr.v16i3.29
5. Chames P, Van Regenmortel M, Weiss E, et al. Therapeutic antibodies: Successes, limitations and hopes for the future. *Br J Pharmacol* 2009; 157: 220–233. doi:10.1111/j.1476-5381.2009.00190.x
6. Erdag B, Balcioglu BK, Ozdemir Bahadır A, et al. Identification of novel neutralizing single-chain antibodies against vascular endothelial growth factor receptor 2. *Biotech and Applied Biochem* 2011; 58; 6: 412-422.
7. Hamers-Casterman C, Atarhouch T, Muyldermans S, et al. Naturally occurring antibodies devoid of light chains. *Nature* 1993; 363: 446–448. doi:10.1038/363446a0
8. Jovčevska I, Muyldermans S. The Therapeutic Potential of Nanobodies. *BioDrugs*. Springer International Publishing 2020; 34: 11–26. doi:10.1007/s40259-019-00392-z
9. Harmsen MM, De Haard HJ. Properties, production, and applications of camelid single-domain antibody fragments. *Appl Microbiol Biotechnol* 2007; 77: 13–22. doi:10.1007/s00253-007-1142-2
10. Li C, Tang Z, Hu Z, et al. Natural single-domain antibody-nanobody: A novel concept in the antibody field. *J Biomed Nanotechnol* 2018; 14: 1–19. doi:10.1166/jbn.2018.2463
11. Khodabakhsh F, Behdani M, Rami A, et al. Single-Domain Antibodies or Nanobodies: A Class of Next-Generation Antibodies. *Int Rev Immunol Taylor & Francis* 2018; 37: 316–322. doi:10.1080/08830185.2018.1526932
12. Chanier T, Chames P. Nanobody Engineering: Toward Next Generation Immunotherapies and Immunoimaging of Cancer. *Antibodies* 2019; 8: 13. doi:10.3390/antib8010013
13. Oliveira S, Schiffelers RM, van der Veeken J, et al. Downregulation of EGFR by a novel multivalent nanobody-liposome platform. *J Control Release Elsevier B.V* 2010; 145: 165–175. doi:10.1016/j.jconrel.2010.03.020
14. Van Der Meel R, Oliveira S, Altintas I, et al. Tumor-targeted Nanobullets: Anti-EGFR nanobody-liposomes loaded with anti-IGF-1R kinase inhibitor for cancer treatment. *J Control Release Elsevier B.V* 2012; 159: 281–289. doi:10.1016/j.jconrel.2011.12.027
15. GP S. Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. *Science* 1985; 228: 1315–1317.
16. McCafferty J, Griffiths AD, Winter G, et al. Phage antibodies: filamentous phage displaying antibody variable domains. *Nature* 1990; 348: 552–554. doi:10.1038/348552a0
17. Marks JD, Hoogenboom HR, Bonnert TP, et al. By-passing immunization. Human antibodies from V-gene libraries displayed on phage. *J Mol Biol* 1991; 222: 581–597. doi:10.1016/0022-2836(91)90498-U
18. Winter G, Griffiths AD, Hawkins RE, et al. Making Antibodies by Phage Display Technology. *Annu Rev Immunol* 1994; 12: 433–455. doi:10.1146/annurev.iy.12.040194.002245
19. Pento JT. Monoclonal Antibodies for

- the Treatment of Cancer. *Anticancer Res* 2017; 37: 5935–5939. doi:10.21873/anticancer.12040
20. Trenevska I, Li D, Banham AH. Therapeutic antibodies against intracellular tumor antigens. *Front Immunol* 2017; 8. doi:10.3389/fimmu.2017.01001
 21. Normanno N, De Luca A, Bianco C, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer. *Gene* 2006; 366: 2–16. doi:10.1016/j.gene.2005.10.018
 22. Seshacharyulu P, Ponnusamy MP, Haridas D, Jain M, Ganti AK, Batra SK. Targeting the EGFR signaling pathway in cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets* 2012; 16: 15–31. doi:10.1517/14728222.2011.648617
 23. Xu MJ, Johnson DE, Grandis JR. EGFR-targeted therapies in the post-genomic era. *Cancer Metastasis Rev* 2017; 36: 463–473. doi:10.1007/s10555-017-9687-8
 24. Sigismund S, Avanzato D, Lanzetti L. Emerging functions of the EGFR in cancer. *Mol Oncol* 2018; 12: 3–20. doi:10.1002/1878-0261.12155

Ayaktan Bakım Merkezlerinde Hasta Güvenliği Kültürü Algısına Yönelik Bir Alan Uygulaması

Gözde ORAN YÖNTEM¹, Haluk ŞENGÜN²

Öz

Sağlık bakım hizmetlerinde hastaya verilecek zararın önlenmesi için; sağlık kurum ve kuruluşlarında çalışanlar tarafından alınmış önlemlerin tümü hasta güvenliği kavramı ile ifade bulmaktadır. Kurumda hasta güvenliğinin sağlanması için önemli adımlardan biri hasta güvenliği kültürünün oluşturulmasıdır. Hasta güvenliği kültürü, hata bildiriminde şeffaflık ve tıbbi hataların önlenmesi konusunda sistemli bir yaklaşımı gerektirir. Sağlık hizmeti sunum sürecindeki bütün çalışanlar, herhangi bir şekilde tıbbi hatalarla karşı karşıya kalabilmektedir. Hasta güvenliğinin sağlanabilmesi ancak, üst yönetimin desteğiyle sağlık kurumlarında yüksek riskli aktivitelerin belirlenmesi, tıbbi hataların çekinmeden ve korkusuzca bildirilmesi ve hasta güvenliği için yeterli kaynağın ayrılmasıyla mümkündür. Bu çalışmada; Ayaktan Sağlık Hizmeti Veren Kuruluşlarda Hasta Güvenliği Kültürünün düzeyinin ölçülmesi amaçlanmış olup Ayaktan Sağlık Hizmeti Veren bir diş hastanesinde hasta güvenliğini ele alan bir alan uygulaması yapılmıştır. Çalışan 197 personelden ulaşılan azami örnekleme uygulanmıştır (n=197). Bu bağlamda hastane personelinden 140 kişiye “Hasta Güvenliği Kültürü Hastane Ölçeği” uygulanmış (n=140), hasta güvenliği kültürü bağlamında eksikler tespit edilerek, çözüm önerileri değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kalite, Hasta Güvenliği, Hasta Güvenliği Kültürü

A Field Application for Perception of Patient Safety Culture in Outpatient Care Centers

Abstract

Patient safety is defined as all the measures taken by the employees of health institutions and organizations in order to prevent harm to the patient in health care services. The first important step to ensure patient safety is to establish a patient safety culture. Components of patient safety culture; transparency in error reporting is a systematic approach and honesty to prevent medical errors. All personnel in the health service delivery process may face medical errors in some way. Patient safety culture is an important part of corporate culture. Ensuring patient safety depends on determining high-risk activities in health institutions, reporting medical errors without hesitation and fear, and allocating sufficient resources for patient safety. In this study; It is aimed to measure the level of Patient Safety Culture in Outpatient Health Care Organizations. A field application addressing patient safety has been implemented in a dental hospital that provides outpatient health services. The maximum sampling of 197 employees was used (n = 197). In this context,

¹İstanbul Aydın Üniversitesi, Strateji ve Kalite Geliştirme Daire Başkanlığı, İstanbul

²İstanbul Aydın Üniversitesi Sağlık Yönetimi Anabilim Dalı, İstanbul

Yazışma adresi: Gözde ORAN YÖNTEM, İstanbul Aydın Üniversitesi, Strateji ve Kalite Geliştirme Daire Başkanlığı, İstanbul - Türkiye. Tel: 0534 615 5106, e-posta: gzdeoran@gmail.com, ORCID ID: 0000-0001-9351-434X

Geliş Tarihi: 1 Eylül 2020 - Kabul Tarihi: 18 Ekim 2020

DOI: 10.17932/IAU.TFK.2018.008/tfk_v03i3003

the “Patient Safety Culture Hospital Scale” was applied to 140 personnel from the hospital staff (n = 140), deficiencies in the context of patient safety culture were identified and solutions were evaluated.

Keywords: Quality, Patient Safety, Patient Safety Culture

Giriş

Kalite; yaşamımız ile iç içe geçmiş, sık kullanılan bir kavram olup, kusursuzluğa ulaşmayı amaç edinir. Başka bir ifadeyle, kalitenin sağlanması çeşitli öngörülerle birlikte sektörel olarak doğabilecek bazı sorunlara ihtimaller dâhilinde çözümler üretmeyi amaçlar. Bu çözümler aynı zamanda sunulan hizmeti geliştirecek ve bu hizmetten faydalanan insanların memnuniyetini artıracaktır. Sorun ortaya çıkmadan önce alınacak çözüm önerileriyle maliyetin azaltılması da mümkündür. Bu noktada kalite “mükemmeliyete ulaşma doğrultusunda önceden alınan tedbirler” şeklinde de tanımlanabilir (1). Kaliteyi kalıcı ve sürdürülebilir kılmak onu bir yönetim yaklaşımı olarak benimsemeyi gerektirmektedir.

Toplam kalite yönetimi (TKY); belirli bir organizasyonda kalite süreçlerini odak noktasına alan ve organizasyon bünyesinde faaliyet gösteren üyelerin tümünün katılım sağlanmasıyla başarıya ulaşmayı amaç edinen ve müşteri memnuniyetini esas alan bir yönetim yaklaşımıdır. Kalite süreciyle ilgilenen her kurum ve birey için TKY bir hayat felsefesi haline gelmelidir. Sadece sonucun başarılı ve kaliteli olarak addedilmesi yeterli değildir. İşletmeler için kalite meydana getirilen nihai ürünün kaliteli olması anlamında değerlendirilen sınırlı bir kavram olarak anlaşılmamalıdır. Kalite üretim süreçlerinin tüm aşamalarında standartlaşmış ve verimli bir çalışma sistematığının yerleşmiş olduğu bir anlayışı ifade etmektedir. Hizmet müşteriye hatasız bir şekilde sunulmalı, başlangıçtan müşteriye ulaşıncaya kadar bütün aşamalarda kaliteye özen gösterilmelidir (2).

Sağlık hizmetleri insan odaklı olup, ciddi bir koordinasyon ve uzmanlık gerektiren yaşama doğrudan etki eden ve hata kabul etmeyen bir

sektördür. Nihai odağın insan olması hasebiyle diğer hizmet sektörlerinden ayrıştırılmaktadır. Sağlıkta yüksek kaliteyi yakalamak da bu alanda faaliyet gösteren kişi ve kurumların sorumluluk olarak ilgili hizmetler üzerinde yoğunlaşması ve sıkı denetime tabi tutması ile mümkündür.

Kalite kavramı sağlık sektöründe bir standardizasyon ölçümü olup bu alanda kullanılan öğelerin mükemmelliği ve uyumu sağlık hizmet kalitesini doğrudan etkilemektedir. Sağlık sektöründe verilen hizmetin kaliteli olarak addedilmesi; hastaların yaşam haklarına ve can güvenliklerine öncelik verip, belirli bir standartta bu hizmeti sağlamaya ve planlamaya bağlıdır. Uluslararası göstergelerle belirlenen standartlar dahilinde sağlık hizmetinin hasta ve yakınlarına ulaştırılmasında ilgili hastanın ihtiyaçlarının belirlenerek ona ulaştırılması, doğru tanılama ve doğru tedavi yöntemlerinin uygulanması sağlık hizmetlerinde kaliteyi ifade etmektedir (3).

Esas niteliği itibarıyla karmaşık bir yapıya sahip olan sağlık hizmetleri; farklı etmenlerle birlikte içinde bulunduğu toplumu hem etkilemekte hem de ondan etkilenmektedir. Bununla birlikte hizmetin kapsamı son derece geniş olup, üretimi ve tüketimi de eş zamanlıdır. İnsanların sağlık hizmeti alma ihtiyacının günümüzde artması ve gelecekte de artış gösterecek olması sebebiyle sınırlı olan kaynakların verimli ve etkili kullanılması son derece önem arz etmektedir. Yasal düzenlemeler, son dönem teknolojileri, sağlık sektöründe rekabeti beraberinde getirmektedir. Böyle güçlü bir rekabet ortamında sağlık kuruluşunu başarıya götürecekt temel başarı faktörlerinden biri kaliteli hizmet sunumudur (4). Bu çalışmada ayaktan sağlık hizmeti veren

kuruluşlarında hasta güvenliği kültürünün düzeyinin ölçülmesi amaçlanmıştır. Türkiye’de hasta güvenliği kültürü ile ilgili yapılan çalışmaların azlığı; yaşanan pandemi süreci nedeniyle hasta güvenliğine ilişkin risklerin hiç olmadığı kadar artmış olması araştırmaya olan ihtiyacı doğurmuştur. Bundan sonraki süreçte hasta güvenliği ve sağlıkta kalite araştırmalarının yaygınlaşması; bu çalışmanın yapılacak ileri araştırmalar için öncül olması amaçlanmaktadır.

Kavramsal Çerçeve

Hasta güvenliği, sağlık hizmetlerinde yaşanan karışıklıklar sonucunda hizmet sunumunda hastaya verilen zarar nedenlerinin fazlalaşması ile oluşan bir sağlık bakımı uygulamasıdır. Sağlık bakım hizmeti sunumunda yaşanan tıbbi hataları ve zararları engellemeyi hedeflemektedir. Bunun yanında dünyanın pek çok ülkesinde kaliteli bir hizmet sunumu için sağlık hizmetinin etkili ve güvenilir olması ile ilgili ortak bir düşünce hâkimdir. Hasta güvenliği kültürünün etkin yayılımının sağlanması için bu konuda açık anlaşılır süreçler tanımlanmalı, iyileştirme yapmaya kaynak olacak veriler toplanmalı, alanında uzman sağlık profesyonelleri ile çalışılmalı ve hastaların tedavi süreçlerine etkin katılımı sağlanmalıdır (5).

Sağlık hizmetlerinde yaşanan tıbbi hatalar organizasyonların en önemli ve üzerinde düşündükleri konu olmuştur. Bu konuda oluşan tıbbi uygulama hatalarının minimum seviyeye getirilmesi adına hastalarda bilgilendirilmeleri gerekmektedir. Tüm toplumun hasta güvenliği ve tıbbi uygulama hataları hakkında bilgilendirilmesi toplumun bu yönde bilinçlenmesi doğrultusunda önemlidir (6).

Dünya Sağlık Örgütü, güvenli olmayan sağlık bakım hizmeti nedeniyle yaşanan tıbbi hata kaynaklı ölümlerin, dünya genelindeki ölüm nedenleri arasında ilk on içerisinde yer aldığını belirtmiştir. Buna göre Dünya Sağlık

Örgütü’nün tıbbi hatalar ile ilgili güncel verileri aşağıdaki gibidir(5);

- Gelir düzeyi yüksek olan dünya ülkelerinde tespit edilen her 10 hastadan birinin ölüm nedeni hastanelerde aldığı tıbbi bakım hizmeti sonucunda yaşanan tıbbi zarar kaynaklı olduğu tahmin edilmektedir. Bu yaşanan tıbbi hatalarında %50’sinin önlenebilir hatalardan kaynaklanmaktadır.
- Yapılan araştırmalar güvenli olmayan sağlık bakımları neticesinde her sene gelir düzeyi düşük ve orta olan ülkelere yer alan hastanelerde 134 milyon olumsuz olay olmakta ve bunların 2.6 milyonu ölümlerle sonuçlanmaktadır.
- Yine başka bir çalışmada güvenli olmayan sağlık bakımından dolayı yaşanan olumsuz olayların yaklaşık üçte ikisinin gelir düzeyi düşük ve orta olan ülkelere meydana geldiği bildirilmektedir.
- Tıbbi bakım desteği alan her 10 hastadan 4’ünün birinci basamak ve ayaktan tedavi sunan sağlık hizmetlerinde tıbbi zarar gördüğü tespit edilmiştir. Bu tıbbi zararın %80’inin önlenebilir olduğu ve yaşanan olayların teşhis, reçete ve yanlış ilaç kullanımı kaynaklı olduğu anlaşılmaktadır.
- OECD ülkelerinde hastanelerde sunulan hizmet ve harcamalarının %15’inin yaşanan olumsuz olayların bir sonucu olduğu gözlemlenmiştir.
- Yaşanan bu tıbbi hatalardan oluşan zararların önlenmesi yönünde yapılacak yatırımlar uzun vadede mali tasarruflara ve en önemlisi tıbbi hataların azalmasını sağlayacaktır (5).

Tüm sağlık hizmeti sunumlarında dünya genelinde dönem dönem tıbbi hizmet almak için başvuran hasta kişiler istemeden tıbbi hataya maruz kalmaktadırlar (7).

Hasta güvenliğini sağlayabilmek adına sağlık kurum ve kuruluşların öncelikli olarak ‐Hasta Güvenliği Kültürü‐ üzerine yoğunlaşmaları kurumda bu kültürün oluşup gelişmesini sağlamaları gerekmektedir. Bu noktada kurumlarda inşa edilen kurum kültürü önem kazanmaktadır. Yapılan işler bir mevzuat gerekliliği ya da denetim süreçlerinde karşılaşılan bir zorunluluk olarak değil kurum kültürünün bir parçası olarak algılandığında verimli bir çalışma mekanizmasının sağlanması mümkün olacaktır. Şikâyet mekanizması gibi, bireylere sorumluluk yüklenen konularda güçlü bir kurum kültürünün oluşmamış olması kitle psikolojisinden kaynaklanan sorunlar sarmalına dönüşme riskini barındırmaktadır. Böyle durumlarda, bilhassa iletişimin etkin ve sağlıklı olmadığı, çalışanların düşüncelerini ifade etmekten çekindikleri, demokratik değil de otokratik bir şekilde yönetilen yerlerde önemli zararlara sebebiyet vermektedir (8). Sağlık kurumları hasta güvenliğini kurumun en öncelikli ve en önemli değeri olarak gördüklerinde bu kültürün varlığından bahsedilebilmektedir. Bir sağlık kuruluşunda en önemli kültür, hasta güvenliği kültürüdür. Bunun sağlanabilmesi adına aşağıda yer alan uygulamalar tavsiye edilmektedir;

- Hasta güvenliğinin herkes tarafından bilinmesi ve uygulanması gerektiğinin iletilmesi,
- Hasta güvenliği yöneticiler, personeller ve hastalar ile etkin iletişimin desteklenmesi,
- Tüm personele hasta güvenliğini tehlikeye sokan müdahaleleri belirlenmesi ve azaltılması yönünde sorumluluk verilmesi,
- Hasta güvenliği ile ilgili kaynak yaratılması,
- Tüm çalışanların hasta güvenliği konusunda sürekli eğitiminin sağlanması (6).

Sağlık hizmeti sunan bir kurumda kültürün oluşabilmesi için ilk olarak kurum için yüksek risk oluşturucu ve sonucunda tıbbi hataya sebebiyet veren faaliyetlerin tespit

edilmesi, sağlık kurumunda istemsizce oluşan bu tıbbi hataların bildirimlerinin personeller tarafından korkmadan bildiriliyor olması ve olay bildirimini yapan personellerin cezalandırılmadığı sağlıklı bir iletişim ağının kurulması, kişinin yapacağı bildirim sonucunda bir ceza almayacağına inanıyor olması, yaşanan tıbbi hatanın cezalandırmadan uzak gerçekte nedenin tespit edilerek o yönde iyileştirmeler yapılması konusunda gündeme alınması, risk faktörünün bulunduğu her işlemede iyileştirmelerin yapılabilmesi ancak ve ancak sağlık kurumunun hasta güvenliği ile ilgili kaynak ayırıyor olmasına bağlıdır (9).

Sağlık kuruluşlarında TKY sistemini test etmenin, geliştirmenin ve sürdürülebilir bir yapı kurmanın temel yollarından bir tanesi de akreditasyondur. Joint Commission International (JCI); Joint Commission on Accreditation of Healthcare Organizations (JCAHO) bünyesinde kurulan ve dünya çapında sağlık hizmetlerini standardize etmeyi hedefleyen ve gerekli denetimleri gerçekleştiren uluslararası bir kuruluştur. JCI programında temel amaç devamlılık arz eden bir kalite olgusu ve üst düzey hizmetin kalıcılığını sağlamaktır. Bu hizmetler uluslararası standartlarla belirlenen ve yerel ihtiyaçlara uyarlanabilen hizmetlerdir. JCI gönüllü başvuru kapsamında önceden yayımlamış olduğu standartlara uyum sağlayan kuruluşları sertifikalandırmaktadır. Bunun için kurumları bir değerlendirme sürecine tabii tutmaktadır. Bu değerlendirme süreci sonunda kurumdaki uygulamaların kendi standartlarıyla uyumlu olduğuna kanaat getirilmesi durumunda kuruma bir sertifika verilmektedir. Böylece kurum JCI akreditasyonu standartlarına uyumunu güvence altına almış olmaktadır (10).

JCI'dan akredite olmak amacıyla başvuran ayakta tedavi kuruluşları için uyulması beklenen önemli konulardan biri bütün çalışanların kalite ve hasta güvenliği süreçlerine dahil edilmesidir. Tüm bunların oluşması için kurum kaynaklarının etkin kullanılması,

faaliyetlerin programlanması, bilginin etkin kullanımı doğrultusunda oluşturulan raporlama sistemlerinin sağlık çalışanları tarafından algılanıp bu yönde kurulacak iletişimin net bir kaynakla sunulduğu güvenlik ve kalite süreçlerinin tek bir program altında toplanması gerekmektedir. (11).

Yöntem

Bu çalışmada; ayaktan sağlık hizmeti veren kuruluşlarda Hasta Güvenliği Kültürünün düzeyinin ölçülmesi amaçlanmıştır. Araştırma İstanbul ilinde faaliyet gösteren, 197 personeli olan özel statülü bir ayaktan sağlık hizmeti veren bakım merkezinde yapılmıştır.

Araştırmanın uygulama bölümünde hastanede çalışan personellerin hasta güvenliği kültürü mevcut durumları anket yöntemi ile ölçülmüştür. Araştırmanın evrenini; İlgili ayaktan bakım merkezi, örneklemini ise ilgili hastanede çalışan hekim, hemşire, hekim yardımcısı, sterilizasyon görevlisi, idari personel, tıbbi tekniker ve destek personeli oluşturmaktadır.

Araştırmada kullanılan anket ölçeği; uygulama yapılan dış hastanesinde çalışan 197 personelden ulaşılan azami örnekleme uygulanmıştır (n=197). Bu bağlamda hastane personelinden 140 kişiye anket uygulanmıştır (n=140). Ölçek uygulaması pandemi koşulları nedeniyle uzaktan dijital olarak uygulanmış, veriler Google Formlar yazılımı ile toplanmıştır. Verilerin analizinde SPSS 19.0 paket programı

kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan ölçek Türkçeye çevrilmiş, geçerlilik ve güvenilirlik analizleri uygulanmıştır. Ölçek, ABD’de yer alan AHRQ adlı Kalite ve Akreditasyon Kuruluşuna aittir. AHRQ 1968’ten bu yana halk sağlığını geliştirmek odağıyla; araştırma, demonstrasyon projeleri ve değerlendirmeleri yürütmektedir. Kuruluş sağlık hizmetlerinin kalitesi, uygunluğu ve etkililiği hususlarında kılavuzlar geliştirmek, sağlık hizmetleri ve dağıtım sistemleri hakkında bilgi yaymak amacıyla çalışmalar yapmaktadır. Kurgulanmış olan ölçek farklı bölümlerden oluşmaktadır. Bireylerin çalıştığı bölümle ilgili 16, yönetici ile ilgili 4, iletişim ile ilgili 6, raporlanmış olayların sıklığı ile ilgili 3, ilgili sağlık kuruluşu ile ilgili 11 ifade bulunmaktadır. Betimsel istatistikler yorumlanmıştır. Ölçek maddelerine verilen olumlu cevap skorları, likert ölçeğindeki “Kesinlikle Katılıyorum” (5) ve “Katılıyorum” (4) maddelerinin toplamının toplam cevap sayısına oranı ve sonrasında bu oranın yüzdelik dilimdeki karşılığı bulunarak hesaplanmıştır.

Bulgular

Çalışmada uygulanan Hasta Güvenliği Kültürü ölçeğinde; personellerin çalıştıkları bölümler, yöneticileri ile ilgili bilgiler, birimler ve bölümler arası kurulan iletişimler, raporlanan olaylar ile ilgili raporlanma sıklıkları ve çalıştıkları sağlık kuruluşları ile ilgili sorulara verilen cevapların yüzdeleri alınmış ve seçilen örneklemin hasta güvenliği kültürü algılarının ölçülmesi amaçlanmaktadır.

Tablo 1: Hasta güvenliği kültürü hastane anketi maddelerine verilen olumlu cevap skorları (%) (n=140)

Hasta Güvenliği Kültürü alt maddeleri	Olumlu cevap yüzdesi
Güvenliğin algılanması	
Burada daha ciddi hataların oluşmaması sadece tesadüfe bağlıdır.	35
Hasta güvenliği, daha fazla iş yapmaktan daha öncelikli bir ilkedir.	56
Bu bölümde hasta güvenliği ile ilgili problemler vardır.	42
Uyguladığımız prosedürler ve sistemler hata oluşmasını önlemede başarılıdır.	22

Tıbbi hataların raporlanma sıklığı

Bir hata yapıldığında ancak hastayı etkilemeden fark edilip düzeltildiğinde ne sıklıkla rapor ediliyor?	20
Bir hata yapıldığında ancak hastaya zarar verme potansiyeli olmadığında ne sıklıkla rapor ediliyor?	24
Hastaya zarar verebilme olasılığı olan ancak zarar vermeyen bir hata yapıldığında ne sıklıkla rapor ediliyor?	24

Hastane bölümleri arasında ekip çalışması

Hastane bölümleri birbiriyle uyum içinde çalışmıyor.	13
Birlikte çalışmayı gerektiren bölümler arasında iyi bir işbirliği vardır.	68
Diğer bölümlerden gelen kişilerle çalışmak genellikle hoş karşılanmaz.	5
Hastalar için en iyi bakımı sağlama amacıyla bölümler birlikte iyi çalışır.	74

Aktarım, nakil ve değişim

Hastalar bir bölümden diğerine nakledilirken bazı şeyler ihmal edilir, gözden kaçırılır, kaybedilir.	12
Nöbet değişimi sırasında hasta bakımıyla ilgili önemli bilgiler çoğu zaman kaybedilir.	7
Bölümler arasında bilgi aktarımında sıklıkla problemler oluşur.	5
Bu hastanede nöbet değişimleri hastalar açısından problemlidir.	9

Yönetici beklentileri ve hasta güvenliği faaliyetleri

Yöneticimiz, oluşturulmuş hasta güvenliği prosedürlerine göre yapılmış bir işi gördüklerinde takdir eder.	41
Yöneticimiz, hasta güvenliğini geliştirmek için çalışanların önerilerini ciddiye alır.	30
Yöneticimiz, baskı altında çalışırken kalite kaybı olsa bile bizim daha hızlı çalışmamızı ister.	17
Yöneticimiz tekrar tekrar oluşan hasta güvenliği problemlerini görmezden gelir.	3

Sürekli öğrenme ve geliştirme

Hasta güvenliğini sürekli geliştirecek şeyler yaparız.	34
Yapılan hatalar bu bölümde pozitif değişikliklere yol açmıştır.	22
Hasta güvenliğini geliştirmek için değişiklikler yaptıktan sonra bunların etkinliğini değerlendiririz.	26

Bölümler içinde ekip çalışması

Bu bölümde çalışan kişiler birbirlerini destekler.	67
Acilen yapılması gereken çok iş olduğunda ekip olarak birlikte çalışırız.	63
Bu bölümde çalışanlar birbirine saygılı davranır.	82
Bölüm içinde bir çalışma alanı aşırı yoğunlaştığında diğer çalışanlar yardım eder.	68

İletişimin açık tutulması

Çalışanlar, hasta bakımını olumsuz etkileyebilen bir şey gördüklerinde bunu serbestçe dile getirebilir.	25
Çalışanlar, yöneticilerinin karar ve eylemlerini sorgulamakta kendilerini özgür hissederler.	17
Çalışanlar, bir şey yanlış gözüktüğünde soru sormaktan korkarlar.	56

Hatalar hakkında bilgilendirme ve iletişim

Raporlanan olaylara dayandırılarak yapılan değişiklikler hakkında bilgilendiriliriz.	30
Bu bölümde oluşan hatalar hakkında bilgilendiriliriz.	31
Bölümümüzde, hataların tekrar oluşmasını engelleyecek yöntemleri tartışırız.	29

Tıbbi hataya karşı cezalandırıcı olmayan yanıt

Çalışanlar yaptıkları hatalardan dolayı suçlanacaklarını hissederler.	57
Bir olay rapor edildiği zaman olayla ilgili problem değil, olayla ilgili kişi şikayet ediliyor duygusu vardır.	57
Çalışanlar yaptıkları hataların kişisel dosyalarında muhafaza edildiğinden endişe duyarlar.	61

Personel kaynağı

Bu bölümde iş yükünün üstesinden gelecek kadar personel mevcuttur.	25
“Kriz modunda” çalışarak çok fazla işi, çok hızlı bitirmeye çalışıyoruz.	32

Hasta güvenliği için hastane yönetiminin desteği

Hastane yönetimi hasta güvenliğini artıran bir çalışma atmosferi sağlamaktadır.	29
Yönetimin faaliyetleri, hasta güvenliğinin üst düzey bir öncelik olduğunu gösteriyor.	28
Yönetim, sadece istenmeyen olay olduğunda hasta güvenliği ile ilgili gibi gözükmemektedir.	22

Tartışma

Sağlık hizmeti bireylerin en temel ve en önemli ihtiyaçlarının başında gelmektedir. Sağlık hizmetlerine olan talebin gelecekte de artış göstermesi kaçınılmaz bir gerçeklik olarak değerlendirilmektedir. Fakat sınırlı olan kaynakların bu talebi karşılayabilmek için verimli kullanılması elzemdir. Sağlık kuruluşlarında verimli çalışmanın önemli ölçütlerinden biri kalite temelli anlayışı inşa etmek ve bu anlayışın hasta güvenliği kültürünün yerleşmesinde temel oluşturmasıdır. Yapılan araştırmada özel bir ayaktan sağlık hizmeti verilen kuruluş örneğinde hasta güvenliği kültürü ölçümlenmiştir. Kurumun seçilmesinde en önemli etken ilgili hastanenin uluslararası bir akreditasyon kuruluşu olan JCI (Joint Commission International) tarafından akredite edilmiş olmasıdır. Ayrıca literatürde ayaktan sağlık kuruluşlarında hasta güvenliği kültürü üzerine alan çalışmalarının sayısının azlığı gözlemlenmiştir. Yapılan araştırma neticesinde elde edilen çeşitli bulgular aşağıda tartışılmaktadır.

Bölümler İçinde ve Bölümler Arasında Ekip Çalışması;

Sağlık çalışanları en çok “Bu bölümde çalışanlar birbirine saygılı davranır” (%82) konusunda olumlu cevap bildirmişlerdir. Yine “Diğer bölümlerden gelen kişilerle çalışmak genellikle hoş karşılanmaz” (%5) sorusunda verilen cevap ve diğer tüm başlıklarda verilen cevap ortalamasının %60’ın üzerinde olması her çalışanın kendi biriminde ve diğer birimlerde çalışan personellerle uyum içinde çalıştığı ve

güzel bir iş birliği sağlandığı görülmektedir (Tablo 1). Etkin şekilde bir güvenlik kültürü oluşturmak isteniyorsa bu ancak çalışanların kendi birimleri ve aynı zamanda birimleri dışındaki personellerle de olumlu bir iletişim sağlanmasıyla mümkün olabilmektedir (12). Yapılan anketin bu kısmında ilgili sağlık kuruluşu personellerinin bu yönde uyumlu ve etkin bir ekip çalışması yakaladıkları gözlemlenmektedir. Saptanan bulgu yönünde sonuca ulaşan bir diğer araştırma olan Pronovost ve arkadaşlarının (2003) yaptıkları çalışmada hemşire pozisyonunda yöneticilik yapan çalışanlar (%90), hekimler (%76) ve yine sağlık hizmeti sunumunda yer alan hemşireler (%71) oranlarında çalıştıkları birimlerde ekip çalışmasında arkadaşlarıyla uyumlu çalıştıkları saptanmıştır (13).

Tıbbi Hata Raporlama ve Tıbbi Hataya Karşı Cezalandırıcı Olmayan Yanıt;

Ayaktan Sağlık Kurulunda çalışan personellerin tıbbi hataları çok düşük oranda bildirim raporladıkları görülmüştür (%20, %24, %24). Çalışanların raporlarla ve bildirim davranışı yapılan hatanın hastaya zarar verme olasılığına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Hastaya zarar verilmeyen olaylarda raporlama oranı %24’tür. Ancak hata yapıp hastayı etkilemeden fark edilip düzeltildiğinde daha az raporlandığı görülmektedir. Tüm hata bildirimlerinde ciddi düzeyde raporlama eksikliği bulunmaktadır. Sağlık personellerinin çoğunluğu etkin bir raporlama yapmama sebeplerini tıbbi hata karşısında hatayı bildirenin suçlanacağı düşüncesinin hâkim

olduğu görülmektedir (%57). Aynı şekilde bir olayın rapor edilmesi halinde yaşanan olayla ilgili sorunun değil de sanki olayla ilgili kişinin şikâyet edileceği yönünde bir algı oluşmaktadır (%57). Bu yapılan hataların kişisel dosyalarında tutulacağından duyulan kaygı da yine tıbbi hatanın bildiriminde eksiklik yaşanmasının önde gelen nedenleri arasında yer aldığı anket sonuçları doğrultusunda tespit edilmektedir (%61).

Elde edilen bu bulgular açıkça göstermektedir ki kurumda tıbbi hataların raporlanması hususunda ciddi eksiklikler bulunduğu ve raporlama kültürünün oluşmadığı açıktır (Tablo 1). Benzer bir alan araştırması olan Dursun ve arkadaşlarının (2010) çalışmasında da karşımıza benzer bulgular çıkmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucu (%71.3) tıbbi hataların raporlanmadığı ve bu yönde bir kurum kültürü algısını oluşturulmadığı saptanmıştır (14). Yine Karaca ve arkadaşının (2014) yılında araştırma yaptığı sağlık kuruluşunda hasta güvenliği ile ilgili tıbbi hataların raporlama oranının (%8.6) çok düşük olduğu, bir sağlık kuruluşunda hasta güvenliği kültürü algısının oluşmasında en önemli ölçütün raporlanan olaylar olduğu üzerinde durulmuştur (15). Yapılan bu araştırmalar pek çok sağlık kuruluşlarında raporlama sorunlarının yaygın olarak yaşandığını göstermektedir.

Hatalar Hakkında Bilgilendirme ve İletişim;

Anket sonucuna göre personellerin yaklaşık üçte biri yapılan tıbbi hatalar sonucunda kendilerinin bilgilendirildiklerini düşünmemektedirler (%31). Aynı zamanda katılımcılar %30 raporlanan tıbbi hatalar neticesinde yapılan değişiklikler hakkında bilgilendirildiklerini düşünmektedir. Çalışanların büyük çoğunluğu bölümlerinde oluşan tıbbi hataların tekrarının yaşanmaması adına bunları önleyecek yöntemler konusunda görüş bildiremediklerini iletmişlerdir. Hasta bakımını etkileyen olumsuz bir durum gözlemlendiğinde bunu rahatça dile getirebilenlerin oranı %25'tir. Yine yanlış bir durum gözlemlendiğinde konu ile ilgili soru

sormaktan çekindiklerini iletmişlerdir (%56). Katılımcıların yalnızca %17'si yöneticilerin kararlarını ve eylemlerini sorgulamakta kendilerini rahat hissettiğini eklemiştir (Tablo 1). Toplanan tüm bu sonuçlarda çalışanların iletişim kurmada rahat olmadıkları ve özellikle de yöneticiler ile olan iletişimlerinin yeterli olmadığı görülmektedir. Etkin iletişimin olmadığı yerlerde ise tıbbi hata oranları artmaktadır. Çalışmayı destekler nitelikte Emül ve Demirel'in (2018) çalışmasında hasta güvenliği kültürü anketinde yer alan açık iletişim bölümünün olumlu cevap oranı (%39) olduğu görülmektedir (16). Bu durum sağlık kurumlarında eleştirel bir iletişim düzeyinin henüz yerleşmediğinin göstergesidir.

Yönetici Beklentileri ve Yönetimin Desteği;

Katılımcıların yalnızca %3 gibi küçük bir oranı, tekrar eden hasta güvenliği problemlerinin görmezden geldiğini ifade etmektedirler. Benzer şekilde katılımcıların baskı altında çalışırken kalite kaybı olmasına rağmen, daha hızlı çalışılmalarının talep edildiği önermesine katılımının düşük olduğu gözlemlenmektedir. (%17) Fakat katılımcıların neredeyse üçte birinin yöneticilerinin hasta güvenliğini geliştirmek için çalışanların önerilerini ciddiye almadıklarını düşünmeleri kaygı verici bir bulgu olarak değerlendirilebilir. (%30) Benzer oranlarda yönetim faaliyetlerinin hasta güvenliğine önem atfetmediği ve çalışma atmosferinin hasta güvenliğini artırmaya yönelik bir kurgu içerisinde olmadığı görüşü ifade edilmiştir (Tablo 1). Karaca ve arkadaşının (2014) yılında yaptıkları araştırmada da değindikleri gibi bir sağlık kuruluşunda hasta güvenliği kültürünün varlığından söz edilebilmesi için en öncelikle, yöneticilerin ve yönetimin hasta güvenliğine inanması ve bu yönde tutum ve davranış göstermeleri gerekmektedir (15).

Personel Kaynağı;

Katılımcılar kurumların yeterli personel sayısının bulunduğunu düşünmeyerek "Bu bölümde iş yükünün üstesinden gelecek kadar

personel mevcuttur” anket sorusuna %25 oranında olumlu cevap vermiştir. Personelin sayıca yetersiz olduğu kurumlarda hasta güvenliği riske girmektedir. Personeller, hasta güvenliğini sürekli geliştirecek şeyler yaparız (%34), hasta güvenliğini geliştirmek için değişiklikler yaptıktan sonra bunların etkinliğini değerlendiririz (%26), şeklindeki önermelere de olumsuz bir geribildirim sağlamışlardır. Bu bulgular çalışanların hasta güvenliğini sağlama noktasında iyileştirici bir rol üstelenmede yetersiz kaldıklarını açıkça göstermektedir. Yapılan tıbbi hataların olumlu değişikliklerin öncülü olmadığı (%22) kanaatinin çalışanlar arasında gelişmesi de kaygı verici bir başka bulgudur (Tablo 1). Emül ve Demirel’in (2018) çalışmasının personel kaynağı ölçeğinde olumlu cevap oranı (%46) olarak saptanmıştır. Yeterli düzeyde etkin sağlık profesyoneli istihdamında, yadsınamayacak bir boyutta açığın olduğu görülmektedir (16).

Sağlık kuruluşunda tıbbi hatalar sonucu olası zarar durumunun yaşanması halinde dahi olay bildirimini yapıyor olmak çok önemlidir. Bu sayede hastaya zarar veren tıbbi hatalar zamanında tespit edilerek sonrasında hataların yinelenmemesi sağlanabilir. Raporlama sistemlerinin kolay ulaşılabilir ve elektronik ortamda olması, raporu yapacak kişinin ceza alacağını düşünmemesi yapılan tıbbi hata bildirimini sayılarını etkilemektedir (17).

Sonuç

Anket uygulamasının yapılmış olduğu Ayaktan Sağlık Hizmeti Veren Bakım Merkezinde güvenlik kültürünün kabul edilebilir seviyede olmadığı, kültürün kurum geneline yayılması yönünde gelişmeye ihtiyaç duyulduğu yapılan analizler sonucunda görülmüştür. Bu yönde sağlık personellerinin tıbbi hatalar ve sonuçları, ilaç hatalarının engellenmesi gibi konularda eğitim programları düzenlenerek bu yönde bir organizasyon kültürü oluşturulması sağlanmalıdır. Personeller, yönetimin kendilerini tıbbi olayların

bildirim konusunda desteklemediğini aksine cezalandırıcı etkisinin olabileceğinden bildirim yapmaktan korktukları yönünde anket sorularını yanıtlamışlardır. Tıbbi hataların raporlanmasını destekleyecek yönde bir sistem kurulmalı, ceza yerine personel ödüllendirileceğini düşünmelidir. Bu doğrultuda tıbbi hata bildirim sistemlerinin aktif işlemesi ve işletilmesi sağlanacaktır. Aynı zamanda sistemden yapılan bildirimlerin gizli bir şekilde yapılmasına sistem olarak sağlanmalıdır. Tıbbi hata bildirim yapacak personelin istemediği durumda kimlik bilgisini paylaşmama hakkı olmalı, yasal güvenceler ile personel kendini güvende hissetmelidir. Sonucunda düşük olan tıbbi hata raporlamalarının sayısı artacaktır. Kurumda bulunan Hasta Güvenliği komitesinin aktif olarak çalıştırılması ve yöneticilerin de bu yönde personellerini teşvik edici tutum sergilemeleri gerekmektedir. Aynı zamanda kurumda personel eksikliği olduğu görüşü hâkim olup iletişim sıkıntıları yaşandığı görülmektedir. Bu doğrultuda, çalışanlar arası etkili iletişimin geliştirilmesi yönünde eğitimler verilmesi, personellerin bu yönde teşvik edilmesi ve birimlerde yeterli sayıda personel çalıştırılması gerekliliği yapılan araştırmalar sonucu tespit edilmiştir.

**Bu makalede; İstanbul Aydın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsünde yazım süreci devam etmekte olan “Ayaktan Bakım Merkezlerinde Hasta Güvenliği Kültürünün Önemi, Kullanımı Ve Geliştirilmesine Yönelik Bir Alan Uygulaması” isimli yüksek lisans tezinden elde edilen araştırma bulguları kullanılmıştır.*

KAYNAKLAR

1. Berber AH. Toplam Kalite Yönetimi Uygulamalarının ADŞH’lerde Hasta Memnuniyetine Etkisi: Denizli Örneği, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2019; 18-22
2. Akın Ö. Toplam Kalite Yönetimi ve İnsan, Bursa, 2001; 27-29

3. Dursun TN. “Toplam Kalite Yönetimi Uygulamaları İle Hastane Çalışanlarının İş Tatmini, İş Yaşam Kalitesi Ve İşten Ayrılma Niyeti Arasındaki İlişki: Özel-Kamu Hastanelerinde Bir Alan Uygulaması, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Ankara, 2019; 2-51
4. Çelik Ö. Hastanelerde Uygulanan Sağlık Kalite Standartlarının Sağlık Hizmet Kalitesi Üzerindeki Etkisinin Belirlenmesi: Konya Örneği, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2018; 17-23
5. WHO <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/patient-safety>
6. Hasta Güvenliği: Türkiye ve Dünya. Ankara Türk Tabipleri Birliği Yayınları, Ankara, 2011; 79-80
7. Lewis R Q, Fletcher M. Implementing a national strategy for patient safety: lessons from the National Health Service in England, *Quality and Safety in Health Care* 2005; 14: 135-136
8. Kılınç M. Kitle Kültürünün Dijital Kültüre Dönüşümü ve Toplumsal Etkilerinin İncelenmesi, İstanbul Aydın Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, İstanbul 2017; 27-30
9. Türkmen E, Baykal Ü, Seren Ş, et al. Hasta Güvenliği Kültürü Ölçeği'nin Geliştirilmesi, *Anadolu Hemşirelik ve Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2011; 14: 39-41
10. Joint Commission International, Hastaneler İçin Akreditasyon Standartları, 2003
11. Joint Commission International Ayakta Tedavi İçin Akreditasyon Standartları, 3. Edisyon 2015; 90-92
12. Singer SJ, Gaba DM, Geppert JJ, et al. The Culture Of Safety: Results Of An Organization – Wide Survey In 15 California Hospitals. *Qual Saf Health Care* 2003; 12: 112-114
13. Pronovost PJ, Weast B, Holzmueller CG, et al. Evaluation of the Culture of Safety: Survey of Clinicians and Managers in an Academic Medical Center. *Qual Saf Health Care* 2003; 12: 406-409
14. Dursun S, Bayram N, Aytaç S. Hasta Güvenliği Kültürü Üzerine Bir Uygulama, Celal Bayar Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, *Sosyal Bilimler Dergisi*, 2010; 1: 7
15. Karaca A, Arslan H. A Study for Evaluation of Patient Safety Culture in Nursing Services, *Journal of Health and Nursing Management*, 2014; 1: 15-17
16. Emül E, Demirel ET. Etik İklim Algısının Hasta Güvenliği Kültürü Üzerine Etkisi: Elazığ Örneği, *Turkish Studies Journal* 2018; 111-113
17. Evans SM, Berry JG, Smith BJ, et al. Attitudes and Barriers to Incident Reporting: A Collaborative Hospital Study. *Qual Saf Health Care* 2006; 15: 39-42

Yara Örneklerinden İzole Edilen Metisilin'e Dirençli *Staphylococcus Aureus* Suşlarında Virulans Genlerinin ve Klonal İlişkilerinin Araştırılması

Mert SUDAĞIDAN¹, Samet UÇAK², Orhan YAVUZ³, Mediha Nur Zafer YURT¹, Behiye Büşra TAŞBAŞI¹, Elif Esmâ ACAR¹, Veli Cengiz ÖZALP⁴, Ali AYDIN⁵, Şöhret AYDEMİR⁶

Öz

Amaç: *Staphylococcus aureus* insanlarda deri ve yara enfeksiyonlarına neden olan en önemli patojen bakterilerdendir. Metisilin'e dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarının yaralarda varlığı hastaların tedavisini zorlaştırmaktadır. Çalışmamızda yara sürüntülerinden izole edilen ve MRSA olarak tanımlanan suşların antibiyotik duyarlılıkları, virulans gen içerikleri ve suşlar arasındaki klonal ilişki araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Yara örneklerinden izole edilen suşlar biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle tanımlanmıştır. Suşların 12 antibiyotiğe karşı duyarlılıkları agar disk difüzyon yöntemi uygulanarak, indüklenebilir klindamisin direnci D-testi ile ve virulans gen içerikleri polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile belirlenmiştir. Suşlar arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesinde değişken alanlı jel elektroforezi (pulsed-field gel electrophoresis-PFGE) analizi uygulanmış, *SmaI* enzimi ile elde edilen band profillerinden dendrogram oluşturularak filogenetik analiz yapılmıştır.

Bulgular: Çalışmada 18 MRSA suşu tanımlanmış ve tümünün tetrasiklin, rifampin ve gentamisin'e karşı dirençli oldukları bulunmuştur. Buna karşın tüm suşların linezolid, trimetoprim-sülfametoksazol, kloramfenikol ve quinupristin/dalfopristin'e karşı ise duyarlı oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca 4 MRSA suşu indüklenebilir klindamisin direnci göstermiştir. PZR çalışmalarında tüm suşların *ermA* ve *spc-ermA* genlerini taşıdığı bulunmuştur. Diğer yandan *tetK*, *tetL*, *tetM*, *ermB*, *dfrK*, *vgaC*, *ermT*, *msrA* ve *msrB* genleri suşlarda tespit edilememiştir. *ileS*, *mrm* ve *spc* genleri suşların %94'ünde (17/18) ve *ermC* geni ise suşların %17'sinde (3/18) pozitif bulunmuştur. Sadece MRSA 50B suşu PVL geni taşıdığı tespit edilmiştir. PFGE analizinde izole edilen MRSA suşları arasında %100 ila %69.4 benzerlik olduğu filogenetik analiz ile ortaya konmuştur.

Sonuç: Yara sürüntülerinden izole edilen MRSA suşlarının farklı kökenlerden geldiği ve farklı antibiyotik direnci ve gen içeriklerine sahip olduğu tespit edilmiş ve yara enfeksiyonlarının

¹Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, KİT-ARGEM Araştırma Merkezi, Meram, Konya

²İstanbul Aydın Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

³Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Burdur

⁴Atılım Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

⁵İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul

⁶Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İZMİR

Yazışma adresi: Mert SUDAĞIDAN, Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, KİT-ARGEM Araştırma Merkezi, Melikşah Mah. Beyşehir Cad. No:9 Meram, Konya, Türkiye. Tel: 0332 2235376, e-posta: msudagidan@gmail.com, ORCID ID:0000-0002-3980-8344.

Geliş Tarihi: 21 Ağustos 2020 - Kabul Tarihi: 18 Eylül 2020

DOI: 10.17932/IAU.TFK.2018.008/tfk_v03i3004

tedavisinde suşların virulans özelliklerinin de değerlendirilmesinin son derece önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Yara, Virulans, Metisilin'e direnç, *Staphylococcus aureus*

Determination Virulence Genes and Clonal Relationships of Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* Strains Isolated from Wound Samples

Abstract

Objective: *Staphylococcus aureus* is one of the most important pathogenic bacteria that cause skin and wound infections in humans. The presence of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) strains in wounds makes the treatment of patients difficult. In this study, the antibiotic susceptibilities, virulence gene contents and clonal relationships among MRSA strains isolated from wounds were investigated.

Materials and Methods: The strains isolated from wound samples were identified by biochemical and molecular methods. The susceptibility of the strains against 12 antibiotics was determined using agar disk diffusion method, inducible clindamycin resistance by D-test and virulence gene contents by polymerase chain reaction (PCR). Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) analysis was applied to determine the clonal relationships among the strains, phylogenetic analysis was performed by creating a dendrogram from the band patterns obtained with *SmaI* enzyme.

Results: The results showed that 18 MRSA strains were identified and all strains were found to be resistant to tetracycline, rifampin and gentamicin. On the other hand, all strains were found to be susceptible to linezolid, trimethoprim-sulfamethoxazole, chloramphenicol and quinupristin/dalfopristin. In addition, 4 MRSA strains showed inducible clindamycin resistance. In PCR experiments, it was found that all strains carry *ermA* and *spc-ermA* genes. Whereas, *tetK*, *tetL*, *tetM*, *ermB*, *dfrK*, *vgaC*, *ermT*, *msrA* and *msrB* genes were not detected. *ileS*, *mrm* and *spc* genes were found positive in 94% (17/18) of the strains and the *ermC* gene in 17% (3/18) of the strains. Only MRSA 50B strain was found to carry the PVL gene. Phylogenetic analysis revealed that there was 100% to 69.4% similarity between the MRSA strains in the PFGE analysis.

Conclusion: MRSA strains isolated from wound swabs came from different origins and had different antibiotic resistance and gene contents, and it was concluded that it is extremely important to evaluate the virulence properties of the strains in the treatment of wound infections.

Keywords: Wound, Virulence, Methicillin resistance, *Staphylococcus aureus*

Giriş

Staphylococcus aureus insanların deri ve mukozalarında flora bakterisi olması yanında ciddi enfeksiyonlara yol açabilen en önemli fırsatçı patojen bakterilerdendir (1). 2017 yılında ABD'de 119.247 *S. aureus* kaynaklı kan dolaşımı enfeksiyonu rapor edilirken, 19.832 vaka ölümle sonuçlanmıştır (2). Hastane enfeksiyonlarında özellikle cerrahi yara ve deri üzerinde enfeksiyonlarına yol açan *S. aureus* suşlarının yanı sıra *S. aureus* suşlarının ürettiği eksfoliyatif toksinlerin neden olduğu soyulmuş deri sendromu ve Panton-Valentine Lökosidin

(PVL) toksinlerinden kaynaklı nekrotizan pnömoni hayati risk oluşturabilmektedir (3). Metisilin'e dirençli *S. aureus* (MRSA) suşları toplum kaynaklı ve hastane kaynaklı olarak iki gruba ayrılmaktadır. Toplum kaynaklı MRSA vakaları hastanede tedavi görmemiş kişilerde, gençlerde, kalabalık topluluklar halinde bulunan kişilerde, sporcularda ve spor salonlarında görülebilmektedir. Toplum kaynaklı MRSA enfeksiyonları çoğunlukla deri ve yumuşak doku enfeksiyonları olarak karşımıza çıkmakta ve özellikle staphylococcal cassette chromosome (SCC)*mec* tip IV veya

V kaset genlerini içerdikleri ve PVL geni taşıdıkları belirtilmektedir (4). Sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyonların %10'unu deri ve yumuşak doku enfeksiyonları oluşturmaktadır (5). Hastane kaynaklı MRSA enfeksiyonları genellikle çoklu ilaç direnci gösterirken SCCmec tip I, II ve III kasetini içerdikleri görülmüştür (6).

Çalışmamızda yara sürüntü örneklerinden izole edilen stafilokokların 12 antibiyotiğe karşı direnç profilleri, indüklenebilir klindamisin direnci, antibiyotik direnci ve virulanstan sorumlu genlerin varlığı ve izole edilen MRSA suşları arasındaki klonal ilişki PFGE yöntemi ile araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Stafilokokların izolasyonu

Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi hastanesine başvuran hastalardan alınan yara sürüntü örneklerinden izole edilen bakterilerden ve temel biyokimyasal testlerle (Gram boyanma, katalaz ve koagülaz testleri) stafilokok olarak tanımlanan bakteriler alınarak çalışmaya dahil edilmiştir. Bakterilerin tür düzeyinde tanımlanmaları PZR tabanlı yöntemle gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla saflaştırılan ve -80°C'de stoklanan bakterilerden 1 gece 37°C'de 5 mL triptik soy buyyon (TSB, Oxoid) içerisinde üretilen suşlardan genomik DNA izolasyonu Sudagidan ve ark. tarafından önerilen yöntemle gerçekleştirilmiştir (7). Elde edilen genomik DNA örnekleri PZR çalışmalarında kalıp DNA olarak kullanılmış ve *S. aureus* *nuc*, *coa* ve *spa* genlerinin varlığı suşlarda bu genlere özgü primerler kullanılarak taranmıştır (8,9,10). Elde edilen PZR ürünleri %1.5 1×TAE agaroz jelinde yürütülerek görüntülenmiştir. PZR deneylerinde *S. aureus* ATCC 25923 ve MRSA ATCC 43300 suşlarına ait genomik DNA pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Antimikrobiyal duyarlılık testi

İzole edilen *S. aureus* suşlarının antimikrobiyal duyarlılık testleri 2020 yılına ait Clinical

and Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarına göre agar disk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (11). Çalışma kapsamında penisilin G (10 U), sefoksitin (30 µg), linezolid (30 µg), eritromisin (15 µg), tetrasiklin (30 µg), rifampin (5 µg), gentamisin (10 µg), klindamisin (2 µg), kloramfenikol (30 µg), siprofloksasin (5 µg), trimetoprim-sülfametoksazol (23.75/1.25 µg) ve quinupristin/dalfopristin (15 µg) (Oxoid) antibiyotik diskleri kullanılmıştır. *S. aureus* ATCC 25923 suşu kontrol olarak kullanılmıştır. Mueller-Hinton agar (Oxoid) üzerine inoküle edilen suşlar diskler yerleştirildikten sonra 35°C'de 18-24 saat inkübe edilmiş ve zone çapları ölçülerek direnç profilleri CLSI (2020) standartları ile karşılaştırılarak çıkarılmıştır.

D-test

S. aureus suşlarında indüklenebilir klindamisin direncinin tespitinde D-test yöntemi kullanılmıştır (12). Triptik soy agar üzerinde üretilen suşlardan %0.9 NaCl içeren tüplerde McFarland 0.5 yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlanmış ve Mueller-hinton agar yüzeyine eküvyon yardımıyla inoküle edilmiştir. Eritromisin (15 µg) ve klindamisin (2 µg) diskleri birbirinden 17 mm uzaklıkta olacak şekilde yerleştirilmiş ve 35°C'de 18 saat inkübasyon ardından D şeklinde oluşan indüklenebilir klindamisin direnci gözlemlenmiştir.

Virulans genlerinin PZR ile tespiti

S. aureus suşlarında metisilin direncinden sorumlu *mecA* geni (13), Panton Valentine Lökosidin toksini üretiminden sorumlu PVL geni (14), mupirosin direnci ile ilişkili native isoleucyl-tRNA synthetases ile *S* ve *mrm* genleri (15), makrolid, linkozamid ve streptogramin direncinden sorumlu *ermABC*, *msrA* ve *msrB* genleri (16), tetrasiklin direncinden sorumlu *tetK*, *tetL* ve *tetM* genleri (17,18), *spc-ermA*, trimetoprin direncinden sorumlu *dfrK*, makrolid, linkozamid ve streptogramin A direncinden sorumlu *vgaC*, makrolid, linkozamid ve streptogramin B

direncinden sorumlu ermT, spektinomisin direncinden sorumlu spc geni (18) PZR yöntemiyle ilgili genlere özgü primerler kullanılarak araştırılmıştır. Elde edilen PZR ürünleri agaroz jel elektroforez yöntemi ile ayrıştırılmış ve amplikon boyutları marker DNA ile karşılaştırılarak istenilen gen bölgesinin çoğaltılıp çoğaltılmadığı tespit edilmiştir. PVL geni bakımından pozitif bulunan suşlarda, lukPV-S ve lukPV-F gen bölgelerinden oluşan PVL geninin tüm dizisi Sanger DNA dizileme ile çıkarılmıştır (19).

Değişken Alanlı Jel Elektroforezi (PFGE)

Çalışma kapsamında izole edilen *S. aureus* suşları arasındaki klonal ilişkilerin belirlenmesinde ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri (CDC) tarafından önerilen altın standart yöntem olan PFGE kullanılmıştır. Bu amaçla *S. aureus* suşları 10 mL TSB içerisinde 37°C'de bir gece inkübe edilmiş ve Durmaz ve ark. önerdiği protokol takip edilerek agaroz kalıpları hazırlanmıştır (20). Restriksiyon enzimi ile kesim öncesi agaroz kalıplarından ¼ oranında küçük parçalara ayrılmış ve 30U *Sma*I (Thermo) ile 1 gece boyunca 30°C'de kesime bırakılmıştır. Elektroforez için 0.5×TBE tamponu içerisinde %1'lik PFGE-grade agaroz (Bio-Rad) jeli hazırlanmış ve kesimden alınan agaroz plakları jele yerleştirilmiştir. PFGE jeli 5-40 saniye vuruş süresi, 6 V/cm akım, 14°C sıcaklık uygulanarak CHEF-DR II (Bio-Rad) sisteminde 22 saat elektroforez edilmiştir. Elektroforez sonrasında PFGE jeli 0.5 µg/mL etidyum bromür içeren 500 mL steril deiyonize su içinde 30 dakika orbital çalkalayıcıda karıştırılarak boyanmış, daha sonra 500 mL steril deiyonize su ile tekrar 2 saat destaining işlemi için orbital çalkalayıcıda yıkanmıştır. DNA band görüntüleri alınmış ve BioNumerics 7.6 (Applied Maths, Belçika) yazılımı kullanılarak dendrogram oluşturulmuştur. Filogenetik analiz için dendrogram çiziminde Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) benzerlik katsayısı ve %1.5 band toleransı, %0.5 optimizasyon ve %80

degeneracy cutoff değerleri kullanılmıştır.

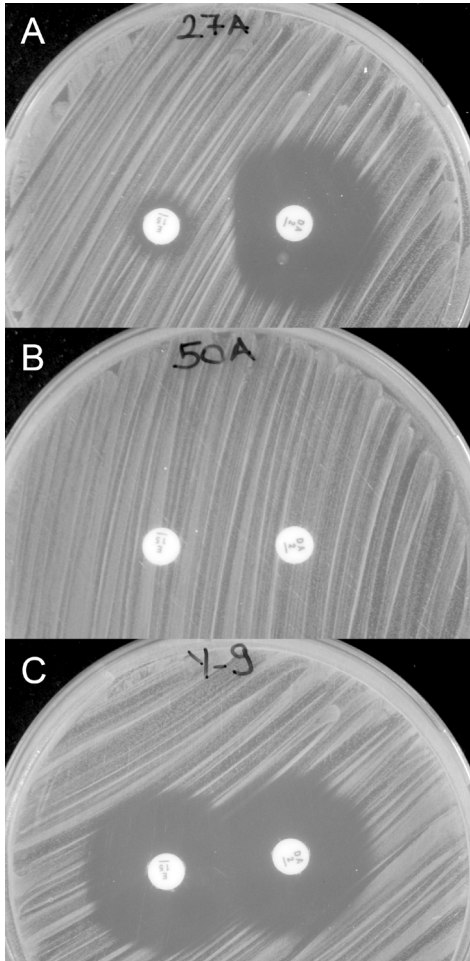
Bulgular

Çalışma kapsamında yara örneklerinden elde edilen bakteriler arasından izole edilen, *nuc*, *coa* ve *spa* genlerini taşıyan 18 *S. aureus* suşu tespit edilmiştir. Tüm suşların sefoksitin'e karşı dirençli ve mecA geni bakımından pozitif bulunmuş ve MRSA olarak tanımlanmıştır. MRSA olarak tanımlanan suşlar penisilin'e doğal dirençlidir. Antibiyotik duyarlılık testlerinde tüm suşların tetrasiklin, rifampin ve gentamisin'e karşı dirençli oldukları bulunmuştur. Buna karşın tüm suşların linezolid, trimetoprim - sülfametoksazol, kloramfenikol ve quinupristin / dalfoipristin'e karşı duyarlı oldukları tespit edilmiştir. *S. aureus* suşlarının %94'ü (17/18) siprofloksasin'e karşı dirençli bulunurken, suşların %39 (7/18) eritromisin, %17'si (3/18) ise klindamisin'e karşı dirençli bulunmuştur. Suşların %22'si (4/18) eritromisin'e karşı ve %11'i (2/18) klindamisin'e karşı orta dirençli (intermediate resistance) olduğu agar disk difüzyon testi sonucunda tespit edilmiştir.

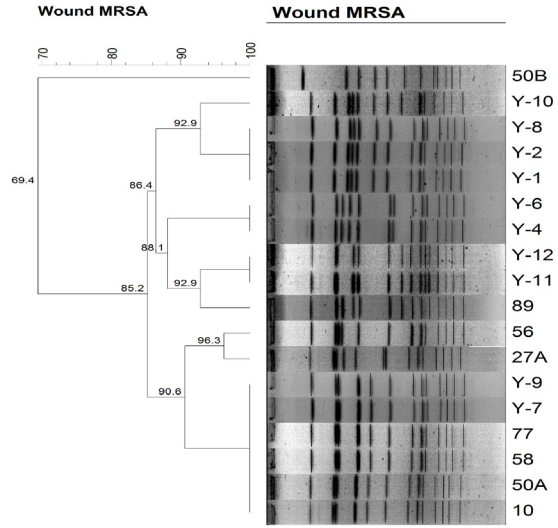
D-test sonucunda 4 suşun (*S. aureus* 56, 89, 27A ve Y-1) indüklenebilir klindamisin direnci gösterdiği tespit edilmiş ve 3 suşun (*S. aureus* 50A, Y-11 ve Y-12) her iki antibiyotiğe karşı dirençli olduğu görülmüştür (Şekil 1).

Antibiyotik direncinden sorumlu genlerin PZR ile araştırılmasında tüm suşların tetM, ermA ve spc-ermA genlerini taşıdığı bulunmuştur. Diğer yandan tetrasiklin direncinden sorumlu tetK ve tetL genleri ile ermB, dfrK, vgaC, ermT, msrA ve msrB genleri suşlarda tespit edilememiştir. ileS, mrm ve spc genleri suşların %94'ünde (17/18) ve ermC geni ise suşların %17'sinde (3/18) pozitif bulunmuştur. Tüm suşlar içerisinde sadece MRSA 50B suşu PVL geni bakımından pozitif bulunmuştur. PVL geninin 1918 bazlık tüm DNA dizisi Sanger DNA dizileme yöntemi ile çıkarılarak GenBank'ta KM588922 accession number ile yayınlanmıştır.

Yara kaynaklı MRSA suşları arasındaki klonal ilişkinin PFGE analizi ile incelenmesinde *S. aureus* 10, 50A, 58, 77, Y-7 ve Y-9 suşlarının, Y-11 ve Y12 suşlarının, Y-4 ve Y-6 suşlarının, Y-1, Y-2 ve Y-8 suşlarının %100 homoloji gösterdiği band profillerinden elde edilen dendrogram incelendiğinde görülmüştür (Şekil 2). PVL pozitif MRSA 50B suşunun ise diğer 17 MRSA suşundan farklı band profiline sahip olduğu ve diğer suşlarla benzerliğinin %69.4 olduğu bulunmuştur. Diğer MRSA suşları arasındaki benzerliğin %96.3 ile %85.2 arasında olduğu PFGE analizi ile tespit edilmiştir (Şekil 2).



Şekil 1. MRSA suşlarında indüklenebilir klindamisin direncinin D-test yöntemi ile belirlenmesi. A: D-test pozitif suş *S. aureus* 27A, B: klindamisin ve eritromisin'e dirençli suş *S. aureus* 50A, C: klindamisin ve eritromisin'e duyarlı suş *S. aureus* Y-9.



Şekil 2. PFGE analizi ile MRSA suşları arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesi. Filogenetik analiz sonucunda elde edilen dendrogram MRSA suşları arasındaki yüzde homolojileri göstermektedir.

Tartışma ve Sonuç

Dünya genelinde *S. aureus* deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında en sık görülen bakteridir ve bunu β -hemolitik streptokoklar, *E. coli* ve *P. aeruginosa* izlemektedir (21). *S. aureus* veya *P. aeruginosa* orjinli deri enfeksiyonları invaziv enfeksiyonlara neden olarak sepsise de yol açabilmektedirler (22,23). Hastane ve toplum kaynaklı MRSA suşlarının hızla artışı hastanede kalış sürelerinin uzamasına ve ekonomik kayıplara neden olması yanında ciddi sayıda can kaybının nedeni olabilmektedir. Kontamine yüzeyler ve araç gereç de nozokomiyal enfeksiyonların yayılımında büyük rol oynamaktadır (24). Özellikle kontamine veya iyi sterilize edilmemiş dövme ekipmanlarının da deride MRSA yaralarına neden olduğu bildirilmiştir (25). Udobi ve ark. yaptıkları çalışmada hastanede yatan hastalardan ve yara örneklerinde izole ettikleri *S. aureus* suşlarını incelediklerinde, yara kaynaklı suşların %75'i, deri kaynaklı suşların %51.4'ü ve hasta yataklarından elde edilen suşların %73.85'i MRSA olarak tanımlanmıştır (26). Lai ve ark. 2004-2016 yılları arasında 6 Afrika ülkesinde antibiyotiklere dirençli yara enfeksiyonları üzerine yaptıkları çalışmada en yüksek

MRSA oranını (%34.6) Benin ve (%31.9) Kongo'da tespit ederken, en düşük MRSA oranları ise (%14.5) Madagaskar ve (%14.3) Togo'da elde edilmiştir (27). Acquisto ve ark. yaptıkları çalışmada yara sürüntüleri ile burun boşluğundan alınan sürüntü örneklerindeki MRSA varlığını karşılaştırmışlardır. Çalışmada yara örneklerinden %59.5 oranında *S. aureus* izole edilirken bunların %75.4'ü MRSA olarak belirlenmiştir. Burun boşluğu örnekleme yapılan 30 hastadan %25.9'u MRSA pozitif bulunmuştur (28). Viquez-Molina ve ark. diyabetik ayak enfeksiyonu geçiren hastalar (n: 379) üzerinde yaptıkları çalışmada 101 yara örneğinde *S. aureus* tespit etmişler ve bunların 35 adedi mecA geni ve 4 adedi PVL geni bakımından pozitif olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar MRSA yara enfeksiyonuna sahip diyabetik ayak hastalarının iyileşme sürelerinin daha uzun olduğunu belirtmişlerdir (29). Diğer bir çalışmada ise Pardos de la Gandara ve ark. deri ve yumuşak doku enfeksiyonuna sahip 129 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada 63'ü *S. aureus* pozitif ve 39'u MRSA olarak tespit edilmiştir. 46/63 *S. aureus* suşu ise PVL geni taşıdığı belirlenmiştir (30).

Çalışmamızda antibiyotik duyarlılık testleri ile gen içerikleri arasında uyum olduğu görülmüştür. Sefoksitin dirençli tüm suşların mecA genini ve tetrasiklin dirençli tüm suşların tetM genini taşıdıkları diğer yandan tetrasiklin direncinden sorumlu tetK ve tetL genlerini içermedikleri belirlenmiştir.

İnsanların derilerinde ve özellikle ellerinde bulunan yaraların gıda işleme işlemleri sırasında gıdalara bulaştırılması ve gıdalar aracılığı ile diğer insanlara bulaştırılması toplum sağlığı açısından da büyük önem arz etmektedir. Daha önceki yapılan çalışmada gıda kaynaklı *S. aureus* suşlarında PVL geni varlığı saptanmış (19) ve bu suşların tavşan deneylerinde nekrotize pnömoni yaptığı ortaya çıkarılmıştır (31). Toksin genlerini taşıyan ve toksin üreten özellikle çoklu direnç gösteren *S. aureus* suşlarının yaralardan yüzeylere, gıdalara

ve direkt temas ile diğer insanlar arasında bulaşması dirençli MRSA suşlarının hızla yayılmasına neden olabilmektedir. Özellikle el hijyeninin önemi ve kontamine ekipmanların doğru ve yeterli süre ile dezenfekte edilmesi MRSA gibi dirençli bakterilerin yayılmasının azaltılmasında önem arz etmektedir.

*Çalışmamızın çıkar çatışması ve maddi desteği yoktur.

*Çalışmamızın sadece antibiyotik duyarlılık kısmı IUMS-2008 (İstanbul) kongresinde poster bildirisi olarak sunulmuştur.

KAYNAKLAR

1. Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, et al. *Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Microbiology Reviews* 2015; 28(3): 603-61.
2. Kourtis AP ve ark. Vital Signs: Epidemiology and Recent Trends in Methicillin-Resistant and in Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Blood stream Infections-United States. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2019; 68(9): 214-9.
3. Labandeira-Rey M, Couzon F, Boisset S, et al. *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidincauses necrotizing pneumonia. *Science* 2007; 315: 1130-3.
4. Otter JA, French GL. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: The case for a genotypic definition. *Journal of Hospital Infection* 2012; 81: 143-8.
5. Reducing Healthcare Associated Infection in Hospitals in England. 12 June 2009. National Audit Office. <https://www.nao.org.uk/report/reducing-healthcare-associated-infections-in-hospitals-in-england/>
6. Palavecino EL. Clinical, Epidemiologic, and Laboratory Aspectsof Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections.

- Yinduo Ji (ed.), Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Protocols, Methods in Molecular Biology 2014; 1085:1-24.
7. Sudagidan M, Çavuşoğlu C, Bacakoğlu F. Investigation of the virulence genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from biomaterial surfaces. Mikrobiyoloji Bülteni 2008; 42: 29-39.
 8. Sudagidan M, Aydın A. Screening virulence properties of staphylococci isolated from meat and meat products. Veterinay Medicine Austria/Wiener Tierärztliche Monatsschrift 2009; 96: 128-34.
 9. Hookey JV, Richardson JF, Cookson BD. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on PCR restriction fragment length polymorphism and DNA sequence analysis of the coagulase gene. Journal of Clinical Microbiology 1998; 36: 1083-9.
 10. Aires-de-Sousa M, Boye K, de Lencastre H, et al. High inter laboratory reproducibility of DNA sequence-based typing of bacteria in a multicenter study. Journal of Clinical Microbiology 2006; 44: 619-21.
 11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 2020; 30th International Ed. document M100, Pennsylvania, USA.
 12. Levin TP, Suh B, Axelrod P, et al. Potential clindamycin resistance in clindamycin-susceptible, erythromycin-resistant *Staphylococcus aureus*: Report of a clinical failure. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2005 ;49(3): 1222-4.
 13. Lem P, Spiegelman J, Toyne B, Ramotar K. Direct detection of mecA, nuc and 16S rRNA genes in BacT/Alert blood culture bottles. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2001; 41(3): 165-8.
 14. Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. Clinical Infectious Diseases 1999; 29: 1128-32.
 15. Seah C, Alexander DC, Louie L, et al. MupB, a New High-Level Mupirocin Resistance Mechanism in *Staphylococcus aureus*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2012; 56(4): 1916-20.
 16. Lina G, Quaglia A, Reverdy M-E, et al. Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides and streptogramins among staphylococci. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1999; 43(5): 1062-6.
 17. Weigel LM, Donlan RM, Shin DH, et al. High-Level Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates Associated with a Polymicrobial Biofilm. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2007; 51(1): 231-8.
 18. Feßler A, Scott C, Kadlec K, et al. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from cases of bovine mastitis. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2010; 65: 619-25.
 19. Sudagidan M, Aydın A. Virulence properties of methicillin-susceptible *S. aureus* food isolates encoding Panton-Valentine Leukocidin gene. International Journal of Food Microbiology 2010; 138: 287-91.
 20. Durmaz R, Otlu B, Çalışkan A, Gürsoy N. *Acinetobacter baumannii*, *Escherichiacoli* ve *Klebsiella* türlerinin moleküler tiplendirmesinde kullanılacak kısa süreli “pulsed-field gel” elektroforez (PFGE) protokolü. ANKEM Dergisi 2007; 21: 113-7.
 21. Pfalzgraff A, Brandenburg K, Weindl G. Antimicrobial peptides and their therapeutic potential for bacterial skin infections and wounds. Frontiers in Pharmacology 2018; 9: 281.
 22. Thangamani S, Nepal M, Chmielewski

- J, Seleem MN. Antibacterial activity and therapeutic efficacy of F1-P(R)P(R)P(L)-5, a cationic amphiphilic polyproline helix, in a mouse model of staphylococcal skin infection. *Drug Design, Development and Therapy* 2015; 9: 5749-54.
23. Guillamet CV, Kollef MH. How to stratify patients at risk for resistant bugs in skin and soft tissue infections? *Current Opinion in Infectious Diseases* 2016; 29: 116-23.
24. Russotto V, Cortegiani AC, Fasciana T, et al. What healthcare workers should know about environmental bacterial contamination in the intensive care unit. *BioMed Research International* 2017; 6905450.
25. Long T ve ark. Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* Skin Infections Among Tattoo Recipients-Ohio, Kentucky, and Vermont, 2004-2005. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)* 2006; 55(24): 677-9.
26. Udobi CE, Obajuluwa AF, Onaolapo JA. Prevalence and antibiotic resistance pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from an orthopaedic hospital in Nigeria. *BioMed Research International* 2013; 860467.
27. Lai PS, Bebell LM, Meney C, et al. Epidemiology of antibiotic-resistant wound infections from six countries in Africa. *BMJ Global Health* 2018; 2: e000475.
28. Acquisto NM, Bodkin RP, Brown JE, et al. MRSA nares swab is a more accurate predictor of MRSA wound infection compared with clinical risk factors in emergency department patients with skin and soft tissue infections. *Emergency Medicine Journal* 2018; 35(6): 357-60.
29. Viquez-Molina G, Aragón-Sánchez J, Pérez-Corrales C, et al. Virulence factor genes in *Staphylococcus aureus* isolated from diabetic foot soft tissue and bone infections. *The International Journal of Lower Extremity Wounds* 2018; 17(1): 36-41.
30. Pardos de la Gandara M, Raygoza Garay JA, Mwangi M, et al. Molecular types of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-sensitive *S. aureus* strains causing skin and soft tissue infections and nasal colonization, identified in community health centers in New York City. *Journal of Clinical Microbiology* 2015; 53: 2648-58.
31. Yildirim F, Aydın A, Akyazi İ, et al. Expression of IL-6, IL-8, IL-10 ve TNF- α in a pneumonia model induced by foodborne *Staphylococcus aureus* producing Pantovallentine leukocidin toxin. 9. Uluslararası Katılımlı Veteriner Patoloji Kongresi, 25-28 Ekim 2018, sayfa 29-30.

An Unusual Togetherness: Ileo-ileal Intussusception Due to an Ileal Lipoma and Acute Appendicitis

Sefa ERGUN, Sangar M Faroq ABDULRAHMAN,
Server Sezgin ULUDAG

Abstract

Abdominal pain is the most common reason of emergency admission in hospitals and acute abdomen is a surgical emergency condition that needs complex diagnosis and treatment. A physician must be careful at differential diagnosis of appendicitis; sometimes there is no one reason to explain the patient disturbances. Intussusception is the invagination of a proximal segment and mesentery of intestine into distal part of bowel. Intussusception can result in acute abdomen due to obstruction and is mostly seen in children aged. Adult intussusception accounts only %5-10 of all cases and is frequently caused by benign or malign tumors.

Gastrointestinal lipomas are reported as benign lesions in 1757 by Bauer. Lipomas mostly originate from adipocyte cells of the submucosa and subserosa of the intestinal wall. Lipomas smaller than 2 cm are frequently have no symptoms but larger than 2 cm diameter mostly have pain, bleeding and obstruction symptoms.

Abdominal CT is the most sensitive technique for detecting of presence and level of intussusception. Treatment of adult intussusception is always surgery. Laparoscopic surgery is an useful and succesful procedure for small intestine intussusception except cases that have contraindications for laparoscopy. In the case we determined the togetherness of intussusception due to ileal lipoma with acute appendicitis.

Keywords: Ileal lipoma, Intussusception, Appendicitis

Nadir Bir Birliktelik: İleal Lipoma Bağlı İntususepsiyon ve Akut Apandisit

Öz

Karın ağrısı hastanelerdeki acile başvuruların en sık nedenlerinden biri olup, akut batın kompleks tetkik ve tedavi gerektiren bir cerrahi acildir. Hekim akut batının bir nedeni olan apandisitini ayırıcı tanısında dikkatli olmalıdır. İntususepsiyon, bağırsağın ve mezenterinin proksimal kısmının distalinin içine girmesidir. İntususepsiyon çoğunlukla çocukluk çağında görülür ve tıkanıklığa bağlı akut batın nedeni olabilir. Erişkin intususepsiyonu tüm vakaların sadece %5-10'unu oluşturup çoğunlukla benign veya malign tümörlere bağlı oluşur. Gastrointestinal lipomlar 1757'de Bauer tarafından benign lezyonlar olarak tanımlandı. Lipomlar çoğunlukla

Istanbul University-Cerrahpasa, Cerrahpasa Medical Faculty Department of General Surgery, Fatih-Istanbul.

Corresponding author: Dr. Sefa ERGUN, Istanbul University-Cerrahpasa, Cerrahpasa Medical Faculty Department of General Surgery, Fatih-Istanbul, e-posta: sefaergn@yahoo.com, Tel: 0537 893 51 48, ORCID ID: /0000-0002-0315-8044.

Received: 24 Ağustos 2020 - Accepted: 26 Eylül 2020

DOI: 10.17932/IAU.TFK.2018.008/tfk_v03i3005

bağırsak duvarının submukoza veya subserozasındaki adiposit hücrelerinden kaynaklanır. 2 cm'den küçük lipomlar genellikle semptom vermezken, 2 cm'den büyükler ağrı, kanama veya tıkanıklığa neden olabilir. Batın BT intususepsiyonun tanısı ve seviyesini tespit etmek için en duyarlı yöntemdir. Erişkin intususepsiyon tedavisi çoğunlukla cerrahidir. Laparoskopik cerrahi kontrendikasyon oluşturmadıkça ince bağırsak intususepsiyonunda kullanışlı ve başarılı tedavi yöntemidir. Bu olgu sunumunda; ileal lipoma bağırsak intususepsiyon ve akut apandisit birlikteliği olan bir hastayı değerlendirdik.

Anahtar Kelimeler: İleal lipom, İntususepsiyon, Apandisit

Introduction

Appendicitis is the most common reason for abdominal pain that needs emergency surgical treatment. Someone has a 7% risk for appendicitis over of lifetime. In appendicitis pathophysiology, mostly there is an obstruction of the appendiceal lumen because of lymphoid hyperplasia, fecaliths, some parasites, or foreign bodies. Diagnosis of appendicitis mainly consists on the patient anemnesis and physical examination (1, 2).

A physician must be careful at differential diagnosis of appendicitis and must think surgical (intestinal obstruction, cholecystitis, peptic ulcer perforation, mesenteric adenitis, meckel's diverticulitis), urological (pyelonephritis, urinary tract infection, colic pain due to stone), gynaecological (ovarian cyst rupture, ectopic pregnancy and pelvic inflammatory disease), and other medical (gastroenteritis, pneumonia, diabetic ketoacidosis, porphyria) reasons (3).

Sometimes after making differential diagnosis there is no one reason to explain the patient disturbances, we can find togetherness of some pathological diseases. In our case 56 year old woman referred to our emergency surgery unit with a abdominal pain and vomiting. After making clinical, laboratory and radiological evaluation we found acute appendicitis together with ileo-ileal intussusception due to ileal lipoma and laparoscopic appendectomy and laparoscopy-assisted ileum resection was performed. In literatures this was the first case of togetherness of ileal intussusception due to ileal lipoma and acute appendicitis. Intussusception is the invagination of a proximal segment and

mesentery of intestine into distal part of bowel (4). Mostly intussusception is seen common in childhood, 5% of all cases is in adults and it accounts only 1% of adult bowel obstructions. In adults mostly malignant or benign tumors acts as leading point of invaginated segment (5, 6).

Gastrointestinal lipomas are seen more frequent in colon than small intestine. Small lipomas have no symptoms, lesions larger than 2 cm can cause signs of obstruction or bleeding (7).

Bowel lipomas diagnosis is difficult due to lack of clinical signs and symptoms, mostly it is recognized after repeated admissions to different hospitals at different times. Ultrasonography (US) and computed tomography (CT) is useful to detect the intestinal lipomas (8).

We reported a case of laparoscopic-assited surgical management of ileal intussusception secondary to ileal lipoma together with appendicitis.

Case Report

A 56 year old woman with no previous illness was admitted to our hospital with complaining of abdominal pain and vomiting. Physical examination revealed abdominal distension, tenderness in the right lower quadrant and periumbilical area. Laboratory values were unremarkable except C-reactive protein level of 16.8 mg/L. Abdominal radiography showed small bowel air-fluid levels. Abdominal US did not provide enough information due to much air in abdomen. CT of the abdomen revealed 2 cm target-like mass, tumor with fat

density and ileo-ileal intussusception (Figure 1 a, b) and increasing on appendix diameter, edema, signs of appendicitis (Figure 1 c). Laparoscopic surgery was performed under general anesthesia. In our exploration we saw the edematous, erectile hyperemic acute appendicitis and ileo-ileal invagination at 60-70 cm proximal to ileocecum valve. Firstly we made laparoscopic appendectomy then laparotomy was performed as 4 cm in the umbilical region for an extracorporeal resection of small bowel and tumor. 10 cm of ileum including the tumor without reduction was

externalized via peritoneal cavity. We made the extracorporeal resection and a functional end-to-end anastomosis was performed.

The patient had an uneventful recovery. She began to oral fluids on day 3 and was discharged on day 5. Pathological examination of resected bowel and appendix revealed 21x30x25 mm ulcerated submucosal lipoma in the bowel and phlegmonous appendicitis.

A written informed consent is received from the patient.

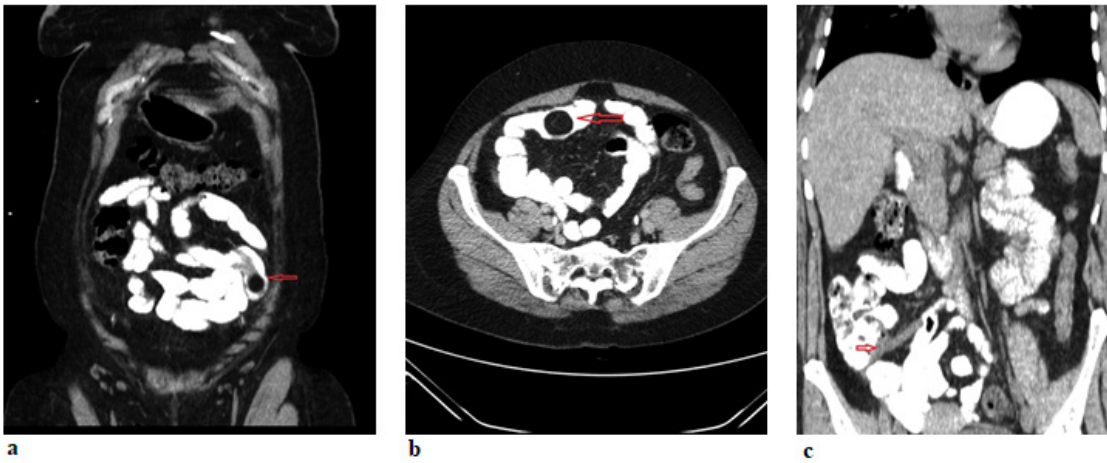


Figure 1. a) Coroner section of CT of the abdomen revealed 2 cm target-like mass, tumor with fat density and ileo-ileal intussusception. b) Axial section of CT of the abdomen that showed ileo-ileal intussusception. c) CT image of signs of appendicitis. (increasing on appendix diameter, edema)

Discussion

Abdominal pain is the most common reason of emergency admission in hospitals and acute abdomen is a surgical emergency condition that needs complex diagnosis and treatment (9). In differential diagnosis of acute abdomen appendicitis is frequently seen disease. Sometimes there can be additional factor to explain the whole cause of abdominal pathology.

Intussusception can result in acute abdomen due to obstruction and is mostly seen in children aged. Adult intussusception accounts only 5-10% of all case and is frequently caused by benign or malign tumors (5, 6). Intussusception is classified into parts as enteric, ileocolic,

ileocecal, and colonic (10). Symptoms of intussusception are abdominal pain, distension and vomiting due to obstruction, hemorrhage and diarrhea (11). Tumors of small intestine constitute nearly 1% of all gastrointestinal tumors. Primarily seen small intestine tumor is gastrointestinal tumor and second is lipomas (11, 12). Gastrointestinal lipomas are reported as benign lesions in 1757 by Bauer. Lipomas mostly originate from adipocyte cells of the submucosa and subserosa of the intestinal wall (7, 13). Location of lipomas in gastrointestinal tract is: colon (mostly in right colon) 70%, small intestine 30% (especially ileum) (14). Size of lipoma is important to cause the clinical presentation but it is not associated with the

degree of symptoms (15). Lipomas smaller than 2 cm are frequently have no symptoms but larger than 2 cm diameter mostly have pain, bleeding and obstruction symptoms (7, 16).

Due to vague abdominal symptoms detection of small intestine tumors is difficult and mostly it is done after repeated hospital admissions (10). Physical examination and history are essential point but radiologic techniques (US, CT) are very important as a complementary part. Also upper and lower gastrointestinal endoscopy, capsule endoscopy, barium enemas are useful for diagnosis.

US is non invasive and easy to do and mostly helpful for children, it seems the characteristic target 'donut' sign and psoudokidney appearance (16). In our case US was ineffective because of so much abdominal air. Abdominal CT is the most sensitive technique for detecting of presence and level of intussusception (15, 17). CT shows classic target sign or sausage shaped mass and reveals the etiology of invagination (16, 17).

Treatment of adult intussusception is always surgery to control the obstruction, bleeding and abdominal pain and prevent the complications (10, 18). There is a dilemma about reduction of invaginated segment during surgery. Some researchers think that en-bloc resection must be done because of tumor possibility and edematous loop can get injury during reduction. Other investigators advocate; reduction decreases the resected segment length of intestine to prevent the short bowel syndrome (18, 19).

We did not make reduction, we resected 10 cm of ileum and it was enough to remove the invaginated segment and tumor. But in literatures there are cases that includes; most of intestinal part is affected from intussusception and reduction was used to prevent massive resections (19, 20).

Laparoscopic surgery is an useful and successful procedure for small intestine intussusception except cases with advanced dilatation of bowels because of obstruction and have contraindications for laparoscopy (19, 21). We used laparoscopy for appendectomy and exploration, we saw the intussusception then externalized the invaginated segment for extracorporeal resection of small bowel and tumor. We made resection and a functional end-to-end anastomosis.

Conclusion

Diagnosis and management of acute abdomen is a complex issue. Like in our case there can be more than one pathology to cause it. Intussusception is uncommon in adults. CT is very important for preoperative diagnosis. Laparoscopy is an effective and succesful procedure to treatment of intussusception also useful to see the other intraabdominal pathologies.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Disclosure

There were no external sources of finding for the present study.

REFERENCES

1. Liu CD, McFadden DW. Acute abdomen and appendix. *Surgery: Scientific principles and practice* 1997; 2: 1246-61.
2. Hardin DM Jr. Acute appendicitis: Review and update. *Am Fam Physician* 1999; 1: 60(7):2027-34.
3. Humes DJ, Simpson J Acute appendicitis. *BMJ* 2006; 9: 530-4.
4. Namikawa T, Hokimoto N, Okabayashi T, Kumon M, Kobayashi M, Hanazaki K. Adult ileoileal intussusception induced by an ileal lipoma diagnosed preoperatively: report of a case and review of the literature. *Surg Today* 2012; 42(7): 686-92.
5. Stubenbord WT, Thorbjarnarson B

- Intussusception in adults. *Ann Surg* 1970; 172(2): 306-10.
6. Meshikhes AW, Al-Momen SA, Al Talaq FT, Al-Jarroof AH. Adult intussusception caused by a lipoma in the small bowel: report of a case. *Surg Today* 2005; 35(2): 161-5.
 7. Dultz LA, Ullery BW, Sun HH, Huston TL, Eachempati SR, Barie PS, Shou J. Ileocecal valve lipoma with refractory hemorrhage. *JLS* 2009; 13(1): 80-3.
 8. Buckley JA, Fishman EK. CT evaluation of small bowel neoplasms: spectrum of disease. *Radiographics* 1998; 18(2): 379-92.
 9. Kamin RA, Nowicki TA, Courtney DS, Powers RD. Pearls and Pitfalls in the Emergency Department Evaluation of Abdominal Pain. *Emerg Med Clin North Am* 2003; 21: 61-72.
 10. Azar T, Berger DL. Adult intussusception. *Ann Surg* 1997; 226(2): 134-8.
 11. Yao T, Yao K, Matake H, Furukawa K, Nagae T, Motomura A. Primary small intestinal tumors (in Japanese with English abstract). *Stomach Intestine* 2001; 36: 871-81.
 12. Tsushimi T, Matsui N, Kurazumi H, Takemoto Y, Oka K, Seyama A, & Morita T. Laparoscopic resection of an ileal lipoma: Report of a case. *Surgery today* 2006; 36(11): 1007-11.
 13. Granado de la F, Granado JM, Ochoa P, Granell J. Lipoma de ciego. *Cirugía Española* 1976; 30(2):145-52.
 14. Balamoun H, Doughan S. Ileal lipoma - a rare cause of ileocolic intussusception in adults: Case report and literature review. *World J Gastrointest Surg* 2011; 3(1): 13-5.
 15. Namikawa T, Hokimoto N, Okabayashi T, Kumon M, Kobayashi M & Hanazaki K. Adult ileoileal intussusception induced by an ileal lipoma diagnosed preoperatively: report of a case and review of the literature. *Surgery today* 2012; 42(7): 686-92.
 16. Bravo AMM, Mansilla CV, Fraguas FN & Vicent, FJG. Ileocolic intussusception due to giant ileal lipoma: Review of literature and report of a case. *Int J Surg Case Rep* 2012; 3(8): 382-84.
 17. Eisen LK, Cunningham JD, Aufses AH. Intussusception in adults: institutional review. *J Am Coll Surg* 1999; 188: 390-5.
 18. Begos DG, Sandor A, Modlin IM. The diagnosis and management of adult intussusception. *T Am J Surg* 1997; 173(2): 88-94.
 19. Akagi I, Miyashita M, Hashimoto M, Makino H, Nomura T, Tajiri T. Adult intussusception caused by an intestinal lipoma: report of a case. *Journal of Nippon Medical School* 2008; 75(3): 166-70.
 20. Reijnen HA, Joosten HJ, de Boer H.H. Diagnosis and treatment of adult intussusception. *Am J Surg* 1989; 158(1): 25-8.
 21. Chekan EG, Westcott C, Low VH, Ludwig KA. Small bowel intussusception and laparoscopy. *Surg Laparosc Endosc* 1998; 8: 324-6.

Bel Ağrısı ile Başvuran Sakral Perinöral Kist Tanılı Bir Olgu Sunumu

Çağrı KILIÇ

Öz

Tarlov kisti olarak da bilinen sakral perinöral kistler dorsal kök gangliyonu ile sinir kökünün birleşme noktasından kaynaklanmaktadır. Perinöral kistler, beyin omurilik sıvısıyla dolu olup epinörium ve perinöriumda kistik dilatasyonlar sonucu oluşur. İlk defa Tarlov tarafından 1938 yılında tanımlanmıştır. Etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte konjenital olarak kabul edilirler. En sık sakral bölgede görülen perinöral kistler nadiren servikal bölgede de görülür. Büyük çoğunluğu asemptomatiktir, fakat sinir kökü veya spinal kord basısı meydana gelirse semptomatik hale dönüşebilir. En sık gözlenen semptom ise sinir kökü basısına bağlı gelişen radikülopatidir. Bu çalışmada, bel ağrısı şikâyeti ile polikliniğimize başvuran bir Tarlov kisti vakası sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: Bel ağrısı, Sakrum, Tarlov kisti

A Diagnosed Sacral Perineural Cyst Presenting with Low Back Pain Case Report

Abstract

Sacral perineural cysts, also known as Tarlov cysts, arise from the junction of the dorsal root ganglion and the nerve root. Perineural cysts are filled with cerebrospinal fluid and occur as a result of cystic dilatations in the epineurium and perineurium. It was first described by Tarlov in 1938. Etiology is not clear, they are considered congenital. Perineural cysts are most common in the sacral region and rarely in the cervical region. It is mostly asymptomatic but may turn into symptomatic if compression of the nerve root or sacral perineural cysts, also known as Tarlov cysts, arise from the junction of the dorsal root ganglion spinal cord occurs. The most common symptom is radiculopathy due to nerve root compression. In this study, a Tarlov cyst case who applied to our outpatient clinic with low back pain is presented.

Keywords: Lowback pain, Sacrum, Tarlov cysts

Başak Tıp Merkezi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Kliniği, Ankara
Yazışma adresi: Dr. Çağrı KILIÇ, Başak Tıp Merkezi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Kliniği,
İstasyon Mahallesi Gazi Mustafa Kemal Bulvarı (Ayaş Caddesi) No:60 A-B Sincan/Ankara,
Türkiye
Tel: 0312 269 17 17, E-posta: drckfb@hotmail.com, ORCID ID: 0000-0001-9032-783X.
Geliş Tarihi: 13 Eylül 2020 -Kabul Tarihi: 16 Ekim 2020
DOI: 10.17932/IAU.TFK.2018.008/tfk_v03i3006

Giriş

Tarlov kisti olarak da bilinen sakral perinöral kistler içinde beyin omurilik sıvısı olan iyi huylu keselerdir. Genellikle sakrumun aşağıya doğru devamında yer alan bölgede oluşurlar. Görülme sıklığı yaklaşık olarak %4.6'dır. Daha çok sakral bölgede oluşan tarlov kistleri nadiren servikal bölgede de görülür (1). Bu hastalar çoğunlukla asemptomatik olmakla beraber boyun-bel ağrısı, kramp, radikülopatik ağrı, hipoestezi, parestezi gibi semptomlarla da başvurabilirler (2). Sakral perinöral kistler sinir kökünün dış yüzeyini örten pia mater ile yine sinir kökünü saran araknoid membran arasında oluşurlar ve kistin duvarları bu yapıları içerir. Kist başlangıçta spinal subaraknoid alan ile serbest ilişkiindedir; ancak bazen bu ilişki ortadan kalkabilir veya yetersiz hale gelebilir. Yine başlangıçta yalnızca tek bir sinir kökü içeren kist daha sonra büyüyerek birden çok sinir kökü içerebilir (3). Tarlov kisti konjenital olarak kabul edilir. Bilgisayarlı tomografi (BT), miyelogramlar ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) tanı koymada faydalıdır (4,5).

Olgu

46 yaşında erkek hasta uzun süredir olan ancak son bir haftadır şiddetlenen bel ağrısı şikâyeti ile polikliniğimize başvurdu. Hastanın ağrısı hareketle artıp istirahatle azalan mekanik vasıflı ağrıydı. Travma ve romatizmal hastalık öyküsü yoktu. Yapılan fizik muayenesinde bel eklem hareket açıklıkları, fleksiyon ve ekstansiyonda daha belirgin olmak üzere ağrılı ve açıldı. Çift bacak kaldırma testi ve valsalva manevrası pozitif saptandı. Paravertebral kas spazmı lomber bölgede mevcuttu. Spinal proses hassasiyeti yoktu. Nörolojik muayenesi ise normal olarak saptandı. Dış merkez lomber MRG'sinde sakral kanalda en büyüğü 14x8 mm boyutlarında ölçülen Tarlov kistleri saptandı (Şekil 1). Hastanın, ek hastalığı yoktu. Hastaya steroid olmayan antiinflatuvar ilaç (NSAİ) ve istirahat önerildi. Bir hafta sonraki kontrolde hasta ağrılarının geçtiğini belirtti. Ev egzersiz programı verilerek poliklinik takibine alındı.



Şekil 1. Lomber manyetik rezonans T2 ağırlıklı görüntülerde sakral yerleşimli Tarlov kistleri (ok ile).

Tartışma

Tarlov kistleri, dorsal kök gangliyonunda ya da distalindeki spinal sinir köklerinin çevresindeki perinöral boşlukların ektazisi ile meydana gelmekte olup içeriğini beyin omurilik sıvısı oluşturmaktadır. Sıklıkla bel ağrısı şikâyeti ile başvuran hastalarda yapılan MRG tetkiklerinde saptanırlar. En sık gözlenen semptom ise sinir kökü basısına bağlı gelişen radikülopatidir (6). Kistin lokalizasyonu ve büyüklüğü, semptom verme olasılığını belirler. Çoğunlukla sakral bölgede lokalizedir ancak tüm omurga seviyelerinde saptanabilirler. Perinöral kistlerin ayırıcı tanısında araknoid kist, sakral meningosel, intradural meningeal kist, sinovyal kist, gangliyon kisti, nöroenterik kist, dermoid kist, epidermoid kist, sekestre disk fragmanı ve kistik nörofibrom düşünülmelidir (7). Kist özelliklerinin belirlenmesinde ve tanı koymada BT, MRG ve miyelografi en sık kullanılan görüntüleme yöntemleridir. MRG, kitle yerleşimi, uzanımı ve spinal kordia ilişkisini ortaya koymada en üstün ve ilk tercih edilecek yöntemdir. Nörodefisiti olmayan yalnızca ağrı şikâyeti olan hastalarda konservatif tedaviler ilk tercih olmalıdır. Yapılan çalışmalarda çapı 1.5 cm'den büyük perinöral kistlerde hastaların cerrahi tedaviden tam ya da tama yakın yarar gördükleri, 1.5cm'den küçük kistlerde cerrahiden görülen yararın anlamlı olmadığı, bu nedenle bu olgularda cerrahi önerilmediği vurgulanmıştır (8). Tarlov kist

tanısı koyduğumuz olgumuzda hem nörodefisit olmaması hemde kistin çapının 1.5 cm'den küçük olması nedeniyle konservatif tedavi tercih edilmiştir.

Sonuç olarak; bel ağrısı ile başvuran hastalarda Tarlov kisti de ayırıcı tanı olarak akla gelmelidir ve ilk olarak konservatif tedaviler denenmelidir. Ancak geçmeyen ağrı ve nörodefisit durumlarında cerrahi tedavi yöntemleri tercih edilmelidir.

Hastanın onam formu 03/11/2020 tarihinde alındı.

KAYNAKLAR

1. Paulsen RD, Call GA, Murtagh FR. Prevalence and percutaneous drainage of cysts of the sacral nerve roots sheath (Tarlov cysts). *AJNR Am J Neuroradiol* 1994;15(2):293-7.
2. Langdown AJ, Grundy JR, Birch NC. The clinical relevance of Tarlov cysts. *J Spinal Disord Tech* 2005;18(1):29-33.
3. Wilkins RH: Intraspinale cysts. In Wilkins RH, Rengachary SS, eds. *Neurosurgery*, New York, NY:Mc Craw-Hill; 1985.p. 2061-70.
4. Praveen VM, Lawrence HP, Bruce MM, Janet MC, Philip RW. Microsurgical treatment of symptomatic Tarlov cysts. *Neurosurgery* 2000; 47(1): 74-9.
5. Squeira EB, Schaffer L, Kranzler LI, Gan J. CT characteristics of sacral perineural cysts: Report of two cases. *J Neurosurg* 1984; 61(3): 596-8.
6. Erkoc, MF, Imamoglu H, Okur A, Gumus, C, Dogan M. Normative size evaluation of internal auditory canal with magnetic resonance imaging: review of 3786 patients. *Folia Morphol* 2012; 71(4):217-20.
7. Khosla A, Wippold FJ. CT myelography and MR imaging of extramedullary cysts of the spinal canal in adult and pediatric patients. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 178(1):201-7.
8. Voyadzis JM, Bhargava P, Henderson Fe. Tarlov cysts: a study of 10 cases with review of the literature. *J Neurosurg* 2001; 95(1):25-32.

YAZAR KILAVUZU

1. Kapsam ve Amaç

Tıp Fakültesi Klinikleri dergisi, İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesinin bilimsel içerikli, resmi yayınıdır. Mart, Temmuz, Kasım aylarında olmak üzere yılda 3 sayı olacak şekilde yayımlanır.

Tıp Fakültesi Klinikleri, tıbbın tüm alanlarında, klinik ve temel bilim orijinal araştırma makaleleri, derlemeler, editör görüşleri ve olgu sunumları yazılarının yayımlandığı “çift-kör” hakemlik (peer-review) ilkelerine dayanan uluslararası bir dergidir.

Tıp Fakültesi Klinikleri’nde makale başvuru veya işlem ücreti uygulanmamaktadır. Yayımlanan yazılar için herhangi bir ücret ya da karşılık ödenmez.

Dergi; temel tıp bilimleri ve klinik branşlarda ulusal ve uluslararası düzeyde katkı yapan araştırma, özgün çalışma, derleme, olgu bildirimleri yayımlamayı hedeflemektedir.

2. Yayın Değerlendirme Politikası

Dergiye gönderilen yazıların, ulusal ya da uluslararası bir dergide yayımlanmamış, yayına kabul edilmemiş ya da yayın için değerlendirme aşamasında olmaması gerekir. Bu gereklilik bilimsel toplantılarda bildiri olarak sunulmuş ve özeti yayımlanmış yazıları kapsamaz ancak bu durumda bildirinin sunulduğu toplantı adı, tarihi ve yeri belirtilmelidir. Eğer makalede daha önce yayımlanmış; alıntı yazı, tablo, resim vs. mevcut ise makale yazarı, yayın hakkı sahibi ve yazarlarından yazılı izin almak ve bunu makalede belirtmek zorundadır.

Tıp Fakültesi Klinikleri’nin uluslararası indekslerde ve veritabanında, İngilizce adı “Medical Faculty Clinics”dir ve kaynaklarda belirtilirken “Med F Clinics” kısaltması ile belirtilmelidir.

Makalelerin formatı “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publications (www.icjme.org) kurallarına göre düzenlenmelidir.

Yazıların bilimsel ve etik sorumlulukları yazarlara, telif hakkı ise İstanbul Aydın Üniversitesi’ne aittir. Yazıların içeriğinden ve kaynakların doğruluğundan yazarlar sorumludur. Yazarlar, yayın haklarının devredildiğini belirten onay belgesini (Yazarlık Katkıları, Yayın Hakkı Devri, Maddi Yardım ve Teşekkür-Kabul İzin Formu) uygun biçimde doldurarak dergi editörlüğüne göndermelidir. Bu forma dergi web adresinden (<http://www.iautipklinikleri.com>) ulaşılabilir. Bu belgenin tüm yazarlar tarafından imzalanarak dergiye gönderilmesi ile birlikte yazarlar, gönderdikleri çalışmanın başka bir dergide yayınlanmadığı ve/veya yayınlanmak üzere incelemede olmadığı konusunda garanti vermiş, bilimsel katkı ve sorumluluklarını beyan etmiş sayılırlar. Bu aşamadan sonra makaleye yeni yazar eklenemez veya yazar isim sıralamasında değişiklik yapılamaz.

Tıp Fakültesi Klinikleri’nde yayınlanmak amacıyla gönderilen ve Etik Kurul onayı alınması zorunluluğu olan deneysel, klinik ve ilaç araştırmaları için Helsinki Bildirisi’ne uygun Etik Kurul Onay Raporu gereklidir <https://www.wma.net/wp-content/uploads/2016/11/DoH-Oct2013-JAMA.pdf>

Deneysel hayvan çalışmalarında ise yazarlar, “Guide for the care and use of laboratory animals” (<http://oacu.od.nih.gov/regs/guide/guide.pdf>) yönergesi kapsamında hayvan haklarını koruduklarını belirtmeli ve kurumlarından Etik Kurul Onay Raporu almalıdır. Etik Kurul onayı ve “Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu” alındığı araştırmanın “Gereç ve Yöntem” bölümünde mutlaka (etik onay numarası ile birlikte) belirtilmelidir. Makalelerin etik kurallara uygunluğu yazarların sorumluluğundadır.

Değerlendirme sürecinde gerek görülürse editör tarafından Etik Kurul onayının bir örneği yazarlardan istenebilir.

Yazılar değerlendirme sürecinde aşırma, yanıltma ve kopya yayın açısından denetlenecek ve etik dışı durumların tespit edilmesi halinde yaptırım uygulanacaktır. Yaptırımlar Committee on Publication Ethics (COPE) kuralları kapsamında belirlenecektir. Bunun yanı sıra, intihali önlemek için yayın öncesinde tüm yazıların intihal araştırma programları ile taraması yapılmaktadır.

3. Makale Başvurusu

Yazarlar makale gönderimlerini derginin online makale kabul sistemi üzerinden yaparlar (<http://www.iautipklinikleri.com>). Bütün başvurularda Yazarlık Katkıları, Yayın Hakkı Devri, Maddi Yardım ve Teşekkür-Kabul İzin Formu doldurularak gönderilmelidir. Yazarlar onay formunu doldurarak, makalelerinin telif hakkını Tıp Fakültesi Klinikleri'ne bıraktıklarını, bilimsel katkı ve sorumluluklarını ve çıkar çatışmasına yol açabilecek mali ya da diğer ilişkilerini açıklamalıdır. Gönderilen yazıda yazışma yapılacak yazar elektronik posta adresi ve yazının tipi (araştırma, derleme, olgu sunumu vs.) belirtilmelidir.

Tüm yazarlar bilimsel katkı ve sorumluluklarını ve çıkar çatışması olmadığını bildiren toplu imza ile yayına katılmalıdır. Araştırmalara yapılan kısmi de olsa nakdi ya da aynı yardımların hangi kurum, kuruluş, ilaç-araç-gereç firmalarınınca yapıldığı dipnot olarak bildirilmelidir. Yayına kabul edilmeyen yazılar yazarlara geriye yollanmaz.

4. Hakem Değerlendirmesi

Tıp Fakültesi Klinikleri bağımsız, önyargısız ve çift-kör hakemlik ilkeleri çerçevesinde yayın yapan süreli bir yayın organıdır. Editör yayın koşullarına uymayan yazıları; düzeltmek üzere yazarına geri gönderme, biçimce düzenleme veya reddetme yetkisine sahiptir. Gönderilen yazılar, editör ve editör yardımcıları ile en az iki hakem incelemesinden geçip, gerek görüldüğü takdirde, istenen değişiklikler yazarlarca yapıldıktan sonra yayımlanır.

Hakem belirleme yetkisi tamamen editör ve yayın kuruluna aittir. Hakemler belirlenirken derginin ulusal veya uluslararası yayın danışma kurulundan isimler seçilebileceği gibi yazının konusuna göre ihtiyaç duyulduğunda, yurtiçi veya yurtdışından bağımsız hakemler de belirlenebilir. Yazarlar, yayına kabul edilen yazılarda, metinde temel değişiklik yapmamak kaydı ile editör, editör yardımcıları, düzeltme yapmalarını kabul etmiş sayılır.

5. Yazım Kuralları Yazar Sorumluluğu

Makalelerin bilimsel kurallara uygunluğu yazarların sorumluluğundadır. Tüm yazarların gönderilen makalede akademik veya bilimsel olarak doğrudan katkısı olmalıdır. Yazar(lar) olarak belirlenen isim aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır:

- (1) Makaledeki çalışmanın, planlama, fikir, yöntem aşamalarında veya çalışmanın yürütülmesinde görev almalı.
- (2) Makalenin yazım aşamasında herhangi bir düzeyde katkısı olmalıdır.
- (3) Makalenin son halini kabul etmelidir.

Yayın, direkt ya da indirekt ticari bağlantı içeriyorsa veya çalışmaya materyal desteği veren bir kuruluş varsa, yazarlar kullanılan ticari ürün, ilaç, firma vs. ile ticari hiçbir ilişkisinin olmadığını ya da var ise nasıl bir ilişkisinin olduğunu (konsültan, diğer anlaşmalar), editöre sunum sayfasında belirtmek zorundadır.

İncelemeye sunulan araştırmada olası bir bilimsel hata, etik ihlal şüphesi veya iddiasıyla karşılaşırsa, bu dergi verilen yazıyı destek kuruluşların veya diğer yetkililerin soruşturmasına sunma hakkını saklı tutar. Bu dergi sorunun düzgün biçimde takip edilmesi sorumluluğunu kabul eder ancak gerçek soruşturmayı veya hatalar hakkında karar verme yetkisini üstlenmez.

Kısaltmalar

Makalede kullanılan kısaltmalar uluslararası kabul görmüş şekilleriyle kullanılmalı, ilk kullanıldıkları yerde açık olarak yazılmalı ve parantez içinde kısaltılmış şekli gösterilmelidir. İlaç adları kullanımında ilaçların jenerik adları Türkçe okunuşlarıyla yazılır. Laboratuvar ölçümleri Uluslararası Sistem (US; Systéme International: SI) birimleri ile bildirilmelidir.

İstatistik Değerlendirme

Makalelerin biyoistatistiksel kurallara uygunluğu yazarların sorumluluğundadır. Tüm retrospektif, prospektif ve deneysel araştırma makaleleri biyoistatistiksel olarak değerlendirilmeli ve uygun plan, analiz ve raporlama ile belirtilmelidir. Makalelerde p değerleri açık olarak verilmelidir.

Yazım Dili

Derginin yayın dili Türkçe ve İngilizce olup Türkçe makalelerde Türk Dil Kurumu'nun Türkçe Sözlüğü veya Yazım Kılavuzuna uygun yazım (www.tdk.gov.tr) geçerlidir.

İngilizce makalelerin ve özetlerin, dergiye gönderilmeden önce gerek duyulduğunda, gramer kuralları yönünden profesyonelce gözden geçirilmesi sağlanmalıdır. Ayrıca gönderilmiş olan makalelerdeki yazım ve dilbilgisi hataları, makalenin içeriğine dokunmadan, redaksiyon komitemiz tarafından düzeltilmektedir. Makalelerin yazım ve dil bilgisi kurallarına uygunluğu yazarların sorumluluğundadır.

6. Dergiye Gönderilecek Yazı Türleri ve Özellikleri

Tıp Fakültesi Klinikleri "Vancouver stili" diye anılan kurallara göre düzenlenmiş yazıları yayınlam (International Committee of Medical Journal Editors. Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals. New England Journal of Medicine, 1997; 336:309-315).

Yazılar sayfanın üst kenarından 3cm, iç ve alt kenardan 2,5 cm, dış kenardan 3,5 cm kenar boşluğu bırakılarak ve çift satır aralıklı "Arial veya Times new roman" yazı formatlarından biri ile Microsoft Word ile yazılmalıdır. Yazıların formatı şu şekildedir:

1) Makale Başlığı: Makale başlığı metnin içeriğini yansıtmalı, kelimelerin sadece baş harfi büyük olacak şekilde yazılmalı, 14 punto, ortalanmış ve koyu yazılmalı, başlık sonrası 2 satır boşluk konmalı.

2) Türkçe-İngilizce Özet ve Anahtar Kelimeler: Makalenin özeti, konunun amacını, yöntemini ve kapsamını net olarak 150-200 kelime ile ifade edecek şekilde 10 punto olarak yazılmalı.

3) Metin: A4 boyutunda üst kenarından 3 cm, iç ve alt kenardan 2,5 cm, dış kenardan 3,5 cm kenar boşluğu bırakılarak ve çift satır aralıklı "Arial veya Times new roman" yazı formatlarından biri ile Microsoft Word ile yazılmalıdır.

4) Kaynaklar ve Dipnotlar: Kaynaklar metin içerisinde cümle sonunda parantez içi numaralandırma yöntemi ile verilmeli ve Kaynaklar bölümünde numaralandırılarak yazılmalıdır.

5) Tablo ve/veya Şekiller: Tabloların numarası ve başlığı bulunmalı, ayrı ayrı sıra sayısı verilerek numaralandırılmalıdır. Tablo numarası kalın, tablo adı ise normal yazılmalıdır.

A. Araştırma Makaleleri

Bu yazılar daha önce yayınlanmamış, özgün araştırma yazıdır.

Araştırma yazıları;

- Türkçe ve İngilizce başlık,
- Türkçe ve İngilizce 500 kelimeyi geçmeyecek şekilde

Öz

Türkçe öz biçimi:

- Amaç
- Gereç ve yöntem
- Bulgular
- Sonuç

İngilizce özet biçimi:

- Objective
- Materials and methods
- Results
- Conclusion

- Türkçe ve İngilizce anahtar kelimeler,
- Giriş,
- Gereç ve Yöntem,
- Bulgular,
- Tartışma,
- Sonuç
- Kaynaklar (en fazla 30 kaynak gösterilebilir.)
bölümlerinden oluşmalıdır.

B. Olgu Sunumları

Bir ya da daha fazla olgunun klinik değerlendirme açısından bilimsel önemini belirten yazılardır.

Olgu sunumları;

- Türkçe ve İngilizce başlık,
- Türkçe ve İngilizce özetler,
- Türkçe ve İngilizce anahtar kelimeler
- Ana metin (Giriş, Olgu Sunumu ve Tartışma bölümlerini içermelidir),
- Kaynaklar (En fazla 15 kaynak gösterilebilir),
- Tablo/şekil/resim bölümlerinden oluşur.

Olgu sunumlarının özeti bölümlere ayrılmış olmayıp 200 kelimeyle, yazının ana metni de 1500 kelimeyle sınırlıdır.

C. Derleme

Tıp Fakültesi Klinikleri”nde doğrudan veya davet edilen yazarlar tarafından hazırlanan bilimsel yazılardır. Uzmanlık derneklerinin hazırladıkları ve derlemelerden oluşan sayılarda “Konuk Editör” sistemi vardır.

Derlemeler Türkçe başlık, Türkçe özet ve Türkçe anahtar kelimeler, İngilizce başlık, İngilizce özet, İngilizce anahtar bölümlerinden oluşur ve yazar sayısı en fazla üç, metin dosyası en fazla 4000, kaynak sayısı da 40 ile sınırlıdır.

D. Editöre Mektup

Son bir yıl içinde dergide yayımlanan makaleler ile ilgili okuyucuların değişik görüş, tecrübe ve sorularını içeren en fazla 500 kelimelik yazılar olup kaynak sayısı 5 ile sınırlıdır. Başlık ve özet bölümleri yoktur. Hangi makaleye (sayı, tarih verilerek) ithaf olduğu belirtilmeli ve sonunda yazarın ismi, kurumu, adresi bulunmalıdır. Mektuba cevap verildiği takdirde, editör veya makalenin yazar(lar)ı tarafından, yine dergide yayımlanarak verilir.

E. Kaynaklar

1. Tüm kaynaklar yazı içinde sıralı olarak belirtilmelidir.
2. Dörtten fazla yazarı olan yazılarda ilk üç isimden sonra “et al.” ibaresi kullanılmalıdır.
3. Dergi isimleri İndex Medicus’da kullanılan biçimde kısaltılmalıdır.

Dergi: Yazar A, Yazar B, Yazar C. Makalenin başlığı. Dergi adının kısaltılması Yıl; Cilt: Sayfa(lar).

Kitap: Yazar A, Yazar B, Yazar C. Bölüm başlığı. In: Editör A, Editör B, Editör C, eds. Kitabın adı.

Kaçıncı baskı olduğu. Yayınlanma yeri: Yayınevi; Yıl. Sayfa(lar).

Örnekler:

Dergi Yazıları

Dergi: Knyazev GG, Bocharov AV, Levin EA, Savostyanov AN, Slobodskoj-Plusnin JY. Anxiety and oscillatory responses to emotional facial expressions. Brain Res 2008 28;1227:174-88. doi: 10.1016/j.brainres.2008.06.108.

Kitaplar

Kitap bölümü: Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis, and Management içinde. 2nd Ed. New York: Raven Press; 1995. p. 465-478.

Kitap: Eyre HJ, Lange DP, Morris LB. Informed decisions: the complete book of cancer diagnosis, treatment, and recovery. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; c2002. p.768.

Web Örneği

Hunzeker CM, Fangman W, Latkowski JM. Folliculotropic mycosis fungoides. Dermatology Online Journal. Available at:<http://dermatology.cdlib.org/131/>.

7. Yazının Yayına Gönderilmesi

Dergiye gönderilecek tüm yazıların gönderilmeden önce yazım kurallarına uygunluğu mutlaka son bir kez kontrol edilmelidir. Yazılar <http://www.iautipklinikleri.com> web sayfasından temin edilebilecek olan “yazar kontrol listesi” tamamlanarak gönderilmelidir. Yazılar, Tıp Fakültesi Klinikleri’ web sayfası üzerinden çevrimiçi olarak veya aşağıda belirtilen elektronik posta adresine konu bölümüne ATK YAZI ibaresi yazılarak gönderilmelidir. Bu yolların dışındaki vasıtalarla gönderilen yazılar değerlendirmeye alınmayacaktır.

Yazışma Tıp Fakültesi Klinikleri

Editör

Dr. Yaşar Meryem Yeşim ÜNLÜÇERÇİ

İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi Florya Yerleşkesi (Halit Aydın Yerleşkesi)

Beşyol Mah.Inönü Cad.No: 38
Sefaköy-Küçükçekmece / İSTANBUL

Tel: +90 444 1 428 / 52003

E-posta: info@iautipklinikleri.com

1. Aim and Scope

Medical Faculty Clinics is the official publication of Istanbul Aydin University, Faculty of Medicine that offers scientific content. It is printed 3 times in a year in the months of March, July and November.

Medical Faculty Clinics is an international journal based on peer-review consultation principles publishing clinic and basic science, original research articles, reviews, editor views and case reports in every field of medicine.

Medical Faculty Clinics does not request application or process fees. Also, it does not pay any kind of compensation or fee for the published articles.

The journal aims to publish research, original work, review and case reports that contribute in its field on national and international levels in basic medical sciences and clinical branches.

2. Evaluation Policy

The submitted articles must not be published or accepted to be published or in the process of evaluation for publication in a national or international journal. This does not include manuscripts that are presented as a proceeding in scientific gatherings and the abstracts of which are published, however in these cases the name, date and place of the gathering must be indicated. In case there are previously published quotes, tables, images etc. in the article, it is required to take the written permissions of the author of the article, publisher and other authors and state it within the article.

The English title of this journal in international indexes and databases is “Medical Faculty Clinics” and it must be cited in references with the following abbreviation “Med F Clinics”.

The submitted articles must be arranged according to the rules of “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publications” (www.icjme.org).

The scientific and ethic responsibilities of the manuscripts belong to their respectful authors whereas the copyrights belong to İstanbul Aydin University. The content of the manuscripts and the accuracy of their sources are in the responsibility of their authors. Authors must fill in the approval form regarding the transfer of the publishing rights accordingly (Author Contributions, Publication Copyright Transfer, Financial Aid and Appreciation-Approval Permission Form) and submit it to the journal editorship. The related form can be downloaded from the website (<http://www.iautipklinikleri.com>) of the journal. By signing and submitting this form, all the authors warrant that the work they have submitted to the Medical Faculty Clinics is not published and/or being evaluated for publishing, and acknowledge their scientific contribution and responsibilities in the work; new authors cannot be added to the article or the existing order of the author names cannot be changed after this point.

Those experimental, clinical and medication researches that require Ethics Committee Approval require Ethics Committee Approval Report in line with the Helsinki Declaration <https://www.wma.net/wp-content/uploads/2016/11/DoH-Oct2013-JAMA.pdf>.

As for the experimental works which include animals, authors must declare that they protect animal rights within the scope of “Guide for the care and use of laboratory animals” (<http://oacu.od.nih.gov/regs/guide/guide.pdf>) instructions and acquire Ethics Committee Approval Report from their institutions. The Ethics Committee Approval and “Informed Volunteer Consent Form” must be necessarily indicated in the “Materials and Methods” section of the related work (together with ethics approval number). Authors are responsible for the compatibility of the articles with the ethical regulations.

In case considered necessary the editor may request a copy of the Ethics Committee approval from the authors during the evaluation process.

The manuscripts will be checked with respect to plagiarism, distortion and copying and sanctions will be imposed on the confirmation of unethical cases. The sanctions will be determined within the scope of the rules of Committee on Publication Ethics (COPE). In addition, all submitted manuscripts are scanned with plagiarism software before publication in order to prevent plagiarism.

3. Application

Authors must submit their articles to the online article submission system of the journal (<http://www.iautipklinikleri.com>). Author Contributions, Publication Copyright Transfer, Financial Aid and Appreciation-Approval Permission Form must be filled and added to each and every submission. Authors must declare transferring the copyrights of their articles to Medical Faculty Clinics, their scientific contribution and responsibilities and their connections (financial or other) that may result in a conflict of interests. The e-mail address of the correspondent author and the type of the manuscript (research, review, case report etc.) must be indicated for the submitted article.

It is required that all the related authors consent in the publication of the manuscript with a collective signature declaring their scientific contribution and responsibilities and that there is no conflict of interests. The names of the institutions, cooperation, medication-material-equipment companies providing partial or full financial or in-kind aids for the researches must be indicated with a footnote. The manuscripts which are rejected for publication, will not be returned to their authors.

4. Referee Evaluation

Medical Faculty Clinics is a periodical that is printed within the frame of independent, unbiased and peer-review referee principles. The editor is entitled to return the manuscripts which do not meet the publication requirements, to its author for further proofreading, edit the manuscript in form or reject manuscripts. The submitted manuscripts are published after the evaluation of the editor and editor assistants together with at least two consultants (referee) and if considered necessary, after being revised by the authors for making requested changes.

The selection of a referee is completely up to the editor and editorial board. Referees may be selected among the names from the national or international editorial board of consultancy of the journal or independent referees may as well be selected locally or internationally upon necessity depending on the subject of the manuscript. For the manuscripts that are accepted for publication, authors agree to accept the revisions of the editor and editor assistants as long as no basic changes are made on the text.

5. Editorial Policies

Author Responsibility

Authors are responsible for the compatibility of their articles with the scientific rules. All the indicated authors must have direct academic or scientific contribution in the submitted article. Author(s) must bear the following qualities;

- (1) contribute in the planning, idea or method processes of the study in the article or have a part in the execution of it.
- (2) have a contribution in the writing of the article in any level.
- (3) approve the final draft of the article.

In case the publication includes direct or indirect commercial connections or has an institution providing material support for the study, authors are required to state clearly whether they are commercially related with any of the used commercial product, medication, company etc. or not to the editor on the page of presentation. If yes, authors must also indicate what kind of commercial relation (consultant, other

agreements) they bear.

In case of a possible scientific error and suspicion or allegation of ethics violation, this journal herein reserves its right of submitting the related manuscript to the investigation of the supporting institutions or other authorities. This journal herein accepts the responsibility of properly following the problem, however it does not undertake the authority to investigate or make a decision regarding the errors.

In case of a possible scientific error and suspicion or allegation of ethics violation, this journal herein reserves its right of submitting the related manuscript to the investigation of the supporting institutions or other authorities. This journal herein accepts the responsibility of properly following the problem, however it does not undertake the authority to investigate or make a decision regarding the errors.

Abbreviations

The abbreviations used in the article must be internationally valid and must be openly written in the initial use with demonstrating the abbreviation of the related concept in parenthesis. While using the names of the medicines, the generic names of the medicines must be written in the way they are pronounced in Turkish language. The laboratory measurements must be indicated with the International System (Système International: SI) units.

Statistical Evaluation

Authors are responsible for the compatibility of their articles with bio-statistical rules. All the retrospective, prospective and experimental research articles must be evaluated bio-statistically and indicated with a suitable plan, analysis and reporting. Articles must provide p values clearly.

Language

The publishing languages of the journal are Turkish and English. Articles written in Turkish language must comply with the Turkish Dictionary or Spell Dictionary of Turkish Language Association (www.tdk.gov.tr). English articles and abstracts must be professionally proofread prior to submission in case considered necessary. In addition, our redaction committee makes corrections on the submitted papers with respect to their spelling and grammar without editing their content.

Authors are responsible for the right use of language, grammar and spelling in their articles.

6. Accepted Manuscript Standards

Medical Faculty Clinics publishes manuscripts in Vancouver style (International Committee of Medical Journal Editors. Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals. New England Journal of Medicine, 1997; 336:309-315). The text must be written in Microsoft Word using either Arial or Times New Roman font style, double-space and with 3 cm top, 2.5 cm left and bottom and 3.5 cm right margin spaces left from each four sides.

The format of the text are as follows:

1) Title: The title of the article must reflect its content and must be written in bold, 14 point-size and centered with only the initial letters capitalized. The title must be followed by 2 blank lines.

2) Turkish and English Abstracts and Keywords: Expressing the purpose, method and scope of the subject clearly, the abstract of the article must be written in 10 point-size using 150-200 words.

3) Text: The text must be written in Microsoft Word using either Arial or Times New Roman font style, double-space and with 3 cm top, 2.5 cm left and bottom and 3.5 cm right margin spaces left from each four sides.

4) Bibliography and Footnotes: Using the method of numbering, sources must be given at the end of the

related sentence in parenthesis within the text as well as in the Bibliography section.

5) Table and/or Figures: Tables must be separately numbered in order and have a title; the number of the table must be typed in bold whereas the title of the table must be typed in normal style.

The submitted manuscript must include the e-mail address of the correspondent author and indicate the type (research paper, review and case report etc.) of the manuscript.

A. Research Papers

These manuscripts are original research texts that are not published previously.

Research papers consist of following sections;

- Turkish and English titles,
- Turkish and English abstracts (not exceeding 500 words)

Turkish Abstract Style:

- Amaç
- Gereç ve yöntem
- Bulgular
- Sonuç

English Abstract Style:

- Objective
- Materials and methods
- Results
- Conclusion

- Turkish and English keywords,
- Introduction
- Material and method
- Findings
- Discussion
- Conclusion
- Bibliography (30 sources at most)

B. Case Reports

These manuscripts are the texts which indicate the scientific importance of one or more cases with respect to clinical evaluation.

Case reports consist of following sections;

- Turkish and English titles,
- Turkish and English abstracts,
- Turkish and English keywords,
- Main text (including Introduction, Case Report and Discussion sections)
- Bibliography (15 sources at most)
- Tables/figures/images

The abstract of the case report is not divided into sections and is limited to 200 words, the main text is limited to 1500 words.

C. Reviews

Reviews are the scientific texts that are prepared for Medical Faculty Clinics by authors directly or by those who are invited. "Guest Editor" system is used for the issues which are prepared by expertise associations or the issues that consist of reviews.

The reviews consist of the following sections;

- Turkish and English titles,
- Turkish and English abstracts,
- Turkish and English keywords,

The number of authors must not exceed 3, the text itself must not exceed 4000 words and the number of sources are limited to 40.

D. Letter to the Editor

These are the texts that not exceeding 500 words, express the different view, experience and questions of the readers regarding the articles published in the journal in the last one year. The number of sources for these texts are limited to 5 and there is no title and abstract sections. The text must indicate (providing issue number and date) to which article it refers to and have the name, institution and the address of the author at the end. In case the letter is to be answered by the editor or the authors of the related article, the answer will be published in the journal.

E. Bibliography

1. All sources must be indicated within the text in the right order.
2. For the manuscripts which have more than four authors, "et al." expression must be used following the first three names of the authors.
3. The name of the journals must be abbreviated as used in Index Medicus.

Journal: Author A, Author B, Author C. Article Title. Abbreviation of Journal Title Year; Volume: Page(s).

Book: Author A, Author B, Author C. Section Title. In: Editor A, Editor B, Editor C, eds. Book Title. Edition Number. Publication Place: Publication House; Year. Page(s).

Examples:

Journals

Journal: Knyazev GG, Bocharov AV, Levin EA, Savostyanov AN, Slobodskoj-Plusnin JY. Anxiety and oscillatory responses to emotional facial expressions. *Brain Res* 2008 28; 1227:174-88. doi: 10.1016/j.brainres.2008.06.108.

Books

Section from a book: Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. *Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis, and Management* içinde. 2nd Ed. New York: Raven Press; 1995. p. 465-478.

Book: Eyre HJ, Lange DP, Morris LB. *Informed decisions: the complete book of cancer diagnosis, treatment, and recovery*. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; c2002. p.768.

Online Sources

Hunzeker CM, Fangman W, Latkowski JM. Folliculotropic mycosis fungoides. Dermatology Online Journal. Available at: <http://dermatology.cdlib.org/131/>.

7. Submission of the Manuscripts

Authors must assuredly check the compatibility of their manuscripts with the editorial guidelines one last time before submitting them to the journal. The manuscripts must be submitted by filling the “author control list” form that can be obtained from the following web page: <http://www.iautipklinikleri.com>. The manuscripts can be submitted online to the official webpage of Medical Faculty Clinics or via the e-mail provided below with the subject “ATK YAZI”. Manuscripts that are delivered by any other means than the above indicated will not be taken into consideration.

Correspondence Medical Faculty Clinics

Editor

Dr. Yaşar Meryem Yeşim ÜNLÜÇERÇİ

Istanbul Aydın University, Faculty of Medicine, Florya Campus (Halit Aydın Campus)

Beşyol Mah.Inönü Cad.No: 38

Sefaköy–Küçükçekmece / İSTANBUL

Telephone: +90 444 1 428 / 52003

E-mail: info@iautipklinikleri.com



Her türlü bilgiye ihtiyaç duyduğunuzda bilgi merkezi 7/24 kapıları sizlere açık!

"Aydınlık bir geleceğe"