



Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni

Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association

e-ISSN: 2667-8381



Cilt (Volume): 13 - Sayı (Issue): 1 - 2022
<https://dergipark.org.tr/vetfarmatoksbulten>



Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni
Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association

Baş Editör / Editor-in-Chief

Prof.Dr. Ender YARSAN (Ankara Üniversitesi, Türkiye)



Editörler Kurulu / Editorial Board

Doç.Dr. Levent ALTINTAŞ (Ankara Üniversitesi, Türkiye)
Doç.Dr.Begüm YURDAKÖK DİKMEN (Ankara Üniversitesi, Türkiye)
Doç.Dr. Hüsamettin EKİCİ (Kırıkkale Üniversitesi, Türkiye)
Dr. Sedat SEVİN (Ankara Üniversitesi, Türkiye)

Danışma Kurulu / Advisory Board

Prof.Dr. Abdurrahman AKSOY (Ondokuzmayıs Üniversitesi)	Prof.Dr. Cavit KUM (Adnan Menderes Üniversitesi)
Prof.Dr. Arif ALTINTAŞ (Ankara Üniversitesi)	Prof.Dr. Aneliya MILANOVA (Trakya Üniversitesi, Bulgaristan)
Prof.Dr. Nuri ALTUĞ (Namık Kemal Üniversitesi)	Prof.Dr. Songül SONAL (Uludağ Üniversitesi)
Prof.Dr. Yavuz Osman BİRDANE (Afyon Kocatepe Üniversitesi)	Prof.Dr. İbrahim TAŞAL (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)
Prof.Dr. Mehmet ÇALICIOĞLU (Fırat Üniversitesi)	Prof.Dr. Bünyamin TRAŞ (Selçuk Üniversitesi)
Prof.Dr. Gürdal DAĞOĞLU (Fırat Üniversitesi)	Prof.Dr.Murat YILDIRIM (İstanbul Cerrahpaşa Üniversitesi)
Prof.Dr. İbrahim DEMİRKAN (Afyon Kocatepe Üniversitesi)	Prof.Dr. Ali Cesur ONMAZ (Erciyes Üniversitesi)
Prof.Dr. Ahmet DOĞANAY (Ankara Üniversitesi)	Dr. Ishraga G. IBRAHİM (Central Veterinary Res Lab, Sudan)
Prof.Dr. Gökhan ERASLAN (Erciyes Üniversitesi)	Dr. Shahram SAGHAEI (Orumieh Azad Üniversitesi, İran)
Prof.Dr. İzzet KARAHAN (Balıkesir Üniversitesi)	Dr. Tomaž SNOJ (Ljubljana Üniversitesi, Slovenya)





Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni
Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association



İmtiyaz Sahibi : Prof.Dr. Ender YARSAN

Yazı İşleri Müdürü : Doç.Dr. Levent ALTINTAŞ

Dernek Yazışma Adresi : Atmaca Sokak No: 8/3 06110, Dışkapı- Ankara

Kapak Tasarım : Makromedya Halkla İlişkiler Ltd. Şti.

Dizgi : Doç.Dr. Hüsamettin EKİCİ

Bültenin amacı, bilimsel etik kuralları çerçevesinde, Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji ile ilgili ulusal - uluslararası literatüre katkıda bulunacak derleme türünde çalışmalarını yayınlamaktır. Yılda üç kez yayınlanan kör hakemli bir açık erişim bültenidir. Bültenin yayın dili Türkçe ve İngilizce'dir. Alınan tüm yazılar intihal yazılımları (iThenticate veya Turnitin programı) ile kontrol edilmektedir.

Bültenimiz 2019 yılı Cilt 10, Sayı 1'den itibaren ResearchBib (Academic Research Index), ESJI (Eurasian Scientific Journal Index), ROOTINDEXING, Google Scholar, Sindex (Scientific Indexing Services), 2020 yılı Cilt 11, Sayı 1'den itibaren de ASOS İndeks, Türkiye Atıf Dizini, Index Copernicus ve TR Dizin indeksleri tarafından taranmaktadır. Bültenimizde yayınlanacak makalelere Cilt: 11, Sayı: 1'den itibaren DOI numarası verilmektedir.

Her Hakkı Saklıdır. Bültende yer alan yazılar kaynak gösterilerek alıntı yapılabilir. Yazıların her türlü sorumluluğu yazarlara aittir.

İletişim: vftdbulden@vetfarmatoks.org.tr





Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni
Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Cilt: 13 - Sayı: 1- 2022

30.04.2022

1. mRNA AŞILARINDA GÜNCEL YAKLAŞIMLAR <i>CURRENT APPROACHES to mRNA VACCINES</i>	
Kamil BATUR, Hakan YARDIMCI.....	1
2. HALK SAĞLIĞI AÇISINDAN ÖNEMLİ GIDA KAYNAKLI VİRAL ETKENLER <i>IMPORTANT FOODBORNE VIRAL AGENTS IN TERMS OF PUBLIC HEALTH</i>	
Ömer ÇAKMAK, Ulaş ACARÖZ, Hüseyin GÜN.....	11
3. PESTİSİTLERİN ARI YETİŞTİRİCİLİĞİNE ETKİSİ <i>THE EFFECT OF PESTICIDES ON BEEKEEPING</i>	
Halil ERGÜN, Levent ALTINTAŞ.....	26
4. TOXOCARA CANİS VE VİSCERAL LARVA MİGRANS <i>TOXOCARA CANIS AND VISCERAL LARVAE MIGRANS</i>	
Selma KOCADEMİR, Kader YILDIZ.....	47
5. VETERİNER FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ'DE META-ANALİZ, SİSTEMATİK DERLEME VE HIZLI DERLEME <i>META-ANALYSIS, SYSTEMATIC REVIEW AND RAPID REVIEW IN VETERINARY PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY</i>	
Hikmet Özgün İŞCAN, Abdurrahman AKSOY.....	55



Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni

Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association

e-ISSN: 2667-8381

Kamil BATUR^{1a}
Hakan YARDIMCI^{1b}

¹Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Mikrobiyoloji A.D., Ankara

ORCID^a: 0000-0002-5019-3475
ORCID^b: 0000-0002-5994-5792

*Sorumlu Yazar: Kamil Batur
E-Posta: batur@ankara.edu.tr

Geliş Tarihi: 10.11.2021
Kabul Tarihi: 21.02.2022

13 (1): 1-10, 2022
DOI: 10.38137/vftd.1021843

Makale atf

Batur, K. & Yardımcı, H. (2022). mRNA aşılarda güncel yaklaşımlar. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni, 13 (1), 1-10. DOI: 10.38137/vftd.1021843

mRNA AŞILARINDA GÜNCEL YAKLAŞIMLAR

ÖZET. Tarihteki ilk aşının 1796 yılında Edward Jenner tarafından geliştirilmesinden günümüze kadar geçen süreçte birçok hastalığa karşı aşı geliştirilmiştir ve etkili olarak kullanılmıştır. Son yıllarda giderek popülerleşen mRNA aşılarının geçmişi 90'lı yıllara kadar dayanmaktadır. Wolf ve arkadaşlarının 1990 yılında lusiferaz ve beta-galaktosidaz enzimlerini kodlayan mRNA'ları farelere kas içi uygulayarak bu proteinleri in vivo olarak gözlemlenmeleri mRNA aşılarının gelişiminde önemli bir basamak olmuştur. mRNA aşıları bir Cap Bölgesi, 5' ve 3' translyasyona uğramayan bölgeler, açık okuma bölgesi ve Poli A kuyruğundan oluşur. Geleneksel mRNA aşıları ve kendi kendini çoğaltan mRNA aşıları olarak iki gruba ayrılırlar. İki grup da hücre translyasyon mekanizmalarını kullanarak antijen üretir. mRNA'nın stabilitesini ve translyasyon verimini arttırmak için Cap, UTR, Poli A kuyruğu gibi bölgeler ve nükleotid bazlar optimize edilmelidir. mRNA'nın hücre içine iletimi için viral vektörler, peptid, polimer ve lipid tabanlı vektörler kullanılabilir. Hedef bölge sakansı içerir bir pDNA tasarımı ile başlayan üretim süreci, optimizasyon ve kalınlardan arındırma ile devam eder. Son ürün bir taşıma sistemi içerisine dahil edilir ve ürünün proteine çevrilme yeteneği test edilir. mRNA aşıları, genome entegre olmaması, nispeten kolay ve hızlı bir şekilde üretilebilmeleri ve güçlü bir bağışıklık yanıtı oluşturmaları gibi avantajları nedeniyle tercih edilen bir aşı platformu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu derlemede mRNA aşıları ve optimizasyonu hakkında genel bilgiler verilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Aşı, Bağışıklık, mRNA, mRNA Aşıları.

CURRENT APPROACHES to mRNA VACCINES

ABSTRACT. Since the development of the first vaccine in history by Edward Jenner in 1796, vaccines against many diseases have been developed and used effectively. The history of mRNA vaccines, which has become increasingly popular in recent years, dates back to the 90s. In 1990, Wolf et al. observed these proteins in vivo by intramuscularly administering mRNAs encoding luciferase and beta-galactosidase enzymes to mice, which was an important step in the development of mRNA vaccines. mRNA vaccines consist of a Cap Region, 5' and 3' non-translated regions, open reading region, and Poly A tail. They are divided into two groups as conventional mRNA vaccines and self-replicating mRNA vaccines. Both groups produce antigens using cell translational mechanisms. In order to increase the stability and translation efficiency of mRNA, regions such as Cap, UTR, Poly A tail and nucleotide bases should be optimized. Viral vectors, peptide, polymer and lipid-based vectors can be used for intracellular delivery of mRNA. The production process, which starts with a pDNA design containing the target region saccharine, continues with optimization and decontamination. The final product is incorporated into a transport system and the ability of the product to be converted into protein is tested. mRNA vaccines emerge as a preferred vaccine platform due to their advantages such as not being integrated into the genome, being relatively easy and fast to produce, and generating a strong immune response. In this review, it is aimed to give general information about mRNA vaccines and their optimization.

Keywords: Immunity, mRNA, mRNA Vaccine, Vaccine.

GİRİŞ

Aşılama, enfeksiyöz hastalıklara karşı korunmada en güvenli yollardan biri olarak kabul edilir. Tarihteki ilk aşı, Edward Jenner tarafından 1796 yılında çiçek hastalığına karşı geliştirilmiştir ve hastalığın eradikasyonunda oldukça önemli bir basamak olmuştur. Aşı kavramının ortaya çıkmasıyla birlikte bir çok araştırmacı tarafından günümüze kadar pek çok aşı geliştirilmiştir ve hastalıklara karşı korunmada kullanılmıştır (Desmetre, 2019).

Aşıların geliştirilmesinde oldukça farklı yöntemler mevcuttur. Organizmanın tümünün kullanıldığı canlı zayıflatılmış (attenüe) aşılar, inaktif (ölü) aşılar ve organizmaların ürettiği toksin ile bağışıklık oluşturmayı hedefleyen toksoid aşılar geleneksel aşılar kategorisinde değerlendirilir. Canlı aşıların tekrar virülens kazanma riski, inaktif aşıların etkilerinin zayıf olması ve adjuvanta ihtiyaç duyması gibi geleneksel aşıların pek çok dezavantajının bulunması, araştırmacıları daha modern teknikler geliştirmeye yöneltmiştir. Geleneksel aşılarla kıyasla rekombinant aşı teknolojisi gibi daha modern tekniklerin kullanıldığı biyoteknolojik aşılar, nükleik asit aşıları, vektör aşıları, subunit aşılar, sentetik peptid aşıları, dendritik hücre aşıları gibi aşı çeşitlerini kapsamaktadır. Nükleik asit aşıları, hücrel ve humoral bağışıklığı tetikleme kapasiteleri ve daha düşük maliyetli basit üretim süreçleri nedeniyle canlı zayıflatılmış ve subunit aşılarla karşı etkili bir alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Nükleik asit aşıları arasında DNA aşıları daha fazla çalışılan bir aşı türü olmasına rağmen son yıllarda mesajcı RNA (mRNA) aşıları giderek popülerleşmektedir (Wadhwa ve ark., 2020).

Bir protein kodlayan mRNA'nın vücuda verilmesi yoluyla protein sentezinin gerçekleştirilmesi ilk kez 1990 yılında Wolff ve arkadaşları tarafından denenmiştir. Wolff, lusiferaz ve beta-galaktosidaz enzimlerini kodlayan mRNA'ları farelere kas içi olarak injekte ederek bu proteinlerin aktivitelerini in vivo olarak gözlemlemiştir (Wolff ve ark., 1990). Aşı olarak mRNA kullanımı ise ilk kez 1995 yılında bir kanser aşısı olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu aşı ile karsinoembriyonik antijeni (CEA) kodlayan mRNA farelere kas içi verilerek farelerde tümöre karşı bağışıklık oluşturulmuştur (Conry ve ark., 1995).

Boczkowski ve ark. (1996) tarafından, 1996 yılında mRNA ile bağışıklığın nasıl şekillendiği ile ilgili önemli bir çalışma ortaya konulmuştur. mRNA ile inkübe

edilen dendritik hücrelerin mRNA'ları alıp kodlayabildiği ve antijeni MHC molekülleri aracılığı ile T hücrelerine sunarak aktive ettiği gösterilmiştir (Boczkowski ve ark., 1996).

Günümüzde mRNA bazlı aşılar, hayvan modellerinde kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır ve birçoğu klinik geliştirme aşamasındadır. mRNA aşıları Vektöre karşı bağışıklık ve hücre genomuna entegrasyon gibi dezavantajlara sahip olmadan vektör ve DNA aşıları gibi hücrel ve humoral bağışıklığı uyarabilir (Iavarone ve ark., 2017). Bu derlemede genel olarak mRNA aşıları ve optimizasyonu hakkında genel bilgiler aktararak güncel aşı çalışmalarına değinilecektir.

mRNA AŞILARININ ÖZELLİKLERİ

Temel olarak, bir başlık görevi gören Cap Bölgesi, 5' ve 3' translyasyona uğramayan bölgeler, açık okuma bölgesi ve Poli (A) kuyruğundan oluşan mRNA aşıları, geleneksel (conventional) mRNA aşıları ve kendi kendini çoğaltan mRNA (self-amplifying) aşıları olmak üzere temelde iki gruba ayrılır. Her ikisi de hücre translyasyon mekanizmalarını kullanarak antijen üretir ve bağışıklık yanıtı oluşturur (Ulmer ve Geall, 2016; Kramps ve Elbers, 2017).

Geleneksel mRNA aşıları yapısal olarak konakçı hücre mRNA moleküllerine benzer ve sadece ilgili antijenik diziyi kodlar. Bunun aksine kendi kendini çoğaltan mRNA aşıları hücre içinde kendini çoğaltmasına imkan veren bir takım faktörler içerecek şekilde modifiye edilmiştir. Kendi kendini çoğaltan mRNA aşıları, tek sarmallı pozitif polariteli (+) RNA molekülü içeren Alfavirüs gibi tasarlanan bir diziyi kodlar. Bu dizi normalde Alfavirüs'te olan yapısal proteinlerin yerine üretilmesi hedeflenen proteinin dizisi ile birlikte yapısal olmayan (NPS) proteinleri içerir (Geall ve ark., 2012).

Alfavirüs tabanlı replikon, 5' ve 3' uçlarında translyasyona uğramayan bölgelerle (UTR'ler) çevrili iki açık okuma bölgesinden (ORF'ler) oluşan diziyi içerir. 5'-ucundaki açık okuma bölgesi 4 adet yapısal olmayan protein (nsPs) ve mRNA yapısını pozitiften (+) negatife (-) çeviren bir viral poliproteini kodlar. Alfavirüs'lere ait olan bu 4 yapısal olmayan proteinlerinin her birinin ayrı bir fonksiyonu vardır (Fros ve Pijlman, 2016). NsP1, mRNA'ya Cap bölgesi eklenmesi için gerekli reaksiyonu katalize eden bir enzimdir. Ayrıca konakçı membranda replikasyon kompleksinin (RC) yerleşmesinde rol oynar.

NsP2, poliproteini ayrı ayrı nsP'lere ayıran proteaz aktivitesine ve replikasyon sırasında RNA dupleksini çözen helikaz aktivitesine sahiptir. NsP3'ün rolü tam olarak aydınlatılmamıştır ancak RC'nin temel bir bileşeni olduğu bilinmektedir. Son olarak RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RDRP) olan nsP4, RC'yi yapılandırır ve tamamlayıcı negatif polariteli (-) RNA ara ürünlerini ve daha sonra pozitif polariteli ve subgenomik (+) mRNA'ları sentezler. Replikondaki ikinci açık okuma bölgesi subgenomik RNA'dan transle edilir ve viral yapısal proteinlerin yerini alan antijeni ifade eder (Geall ve ark., 2012; Fros ve Pijlman, 2016).

Virüs benzeri replikon parçacıklarının paketlenmesi, viral yapısal proteinleri birlikte ifade eden hücre kültürleri tarafından yapılabilir. Bu tür replikonların hayvan modellerinde etkili olduğu ve yapılan klinik çalışmalarda immünojenik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Bernstein ve ark., 2009; Lundstrom, 2014).

mRNA'NIN OPTİMİZASYONU

Son 10 yılda yapılan çalışmalar sayesinde mRNA aşılarının etkinliği konusunda önemli ilerlemeler gerçekleştirilmiştir. Aşıların etkinliğini arttırmak için mRNA üzerindeki bazı yapısal bölgelerin optimize edilmesi gerekir. Nükleosid bazların modifikasyonlarının yanı sıra mRNA'nın baş kısmındaki katabolit aktivatör protein (CAP) adı verilen bölgenin, Poli-A kuyruğu gibi ana yapıyı destekleyen yapıların, translasyona uğramayan bölgelerin (UTR) optimizasyonları mRNA stabilitesini ve gen ekspresyonunu artırır (Schlake ve ark., 2012; Weissman, 2014; Youn ve Chung, 2015). mRNA'nın dayanıklılığını artırmaya yönelik optimizasyonlara ilaveten mRNA tarafından kodlanan antijenin MHC molekülleri üzerinde daha verimli olarak sunulmasını sağlamak için de antijeni kodlayan gen dizisine bir takım yönlendirici diziler eklenebilmektedir (Kreiter ve ark., 2008).

Cap Bölgesi

In vitro sentezlenen mRNA'ya 5'başlık (Cap) eklemek için 2 ana yaklaşım vardır. mRNA aşıları için 5' Cap, in vitro transkripsiyon reaksiyonundan sonra bir Cap enzimi eklenebilir veya in vitro transkripsiyon sırasında Cap analogu dahil edilebilir (Weissman, 2014). İlk yaklaşım Vacciniavirüs enzimlerini kullanmaktır. Bu enzimler ilk olarak m7GpppN Cap ekler ve bunu devamında sondan bir

önceki nükleotide bir 2-O-metil grubu ekleyerek ökaryotik mRNA'larda en sık bulunan Cap yapısıyla benzer bir 5' Cap1 yapısı oluşturur (Schlake ve ark., 2012). In vitro sentezlenen mRNA'ya 5' Cap eklemeye daha yaygın olarak kullanılan ikinci bir yaklaşım ise, in vitro transkripsiyon reaksiyonuna sentetik bir Cap analogu dahil etmektir. Her iki yaklaşımın da avantajları ve dezavantajları vardır. Transkripsiyondan sonra Cap eklenmesi ikinci bir reaksiyon gerektirirken, transkripsiyon sırasında bir Cap analogu dahil etmek yapılan toplam mRNA miktarında bir azalmaya neden olur ve üretilen mRNA'nın bir fraksiyonu bir Cap analogu içermeyecektir (Weissman, 2014).

In vitro transkripsiyon sırasında dahil edilen m7GpppG Cap analogu mRNA'ya bağlanması istenen opsiyonun tersi yönünde bağlanabilir ve bu da translasyon verimini oldukça düşürür (Pasquinelli ve ark., 1995). Bu nedenle son yıllarda ARCA (anti-reverse cap analog) adı verilen ve mRNA'ya sadece bir oryantasyonda bağlanabilen sentetik Cap analog kullanımını içeren bir yöntem geliştirilmiştir (Jemielity ve ark., 2003). ARCA Cap analogları ile üretilen mRNA'lar standart Cap analoglarına göre üstün bir translasyon verimi sergiler ve Cap0 yapısını oluşturur. ARCA, Cap0 ile karşılaştırıldığında, son nükleo tarafın 3 pozisyonunda ek bir metil grubu içerir. Bu sayede ters yönde üretilen mRNA'ların önüne geçilmiş olur ve dolayısıyla translasyon verimi artar (Zhong ve ark., 2018).

Yakın zamana kadar, en popüler Cap analogu ARCA olarak biliniyordu. Fakat günümüzde CleanCap teknolojisi Cap analogları içerisinde en modern teknik olarak değerlendirilir. Standart Cap analogları ve ARCA Cap analogunun düşük verimi ve yüksek enzim maliyetlerine bir çözüm olması amacıyla geliştirilmiştir. Transkripsiyonunu başlatmak için bir dimer (m7GpppG) kullanan ARCA'nın aksine, CleanCap bir trimer (m7GpppAmG) kullanarak transkripsiyona başlar. CleanCap T7 RNA polimeraz ile kombinasyon halindeyken 5' ucundaki nükleotidlerin kimliği daha esnektir ve bu sayede çeşitli başlangıç dizilerine izin verir. Diğer cap analogları içerisinde CleanCap en düşük immünojeniteye sahip olmasıyla öne çıkar ve ökaryotik hücrelerdeki Cap yapısına benzer bir doğal Cap1 analogu oluşturur (McCaffrey, 2019).

Translasyona Uğramayan Bölgeler

mRNA'nın açık okuma bölgelerindeki başlama

kodonundan önceki ve bitiş kodonundan sonraki translasyona uğramayan kısımlar 5' ve 3' UTR (Untranslated Region) olarak adlandırılır. Bu bölgeler gen ifadesinde çeşitli işlevlere sahiptir. 5' ve 3' UTR'ler mRNA stabilitesi, mRNA lokalizasyonu ve translasyon verimliliği üzerinde etkiye sahiptir (Mugridge ve ark., 2018). 5' ve 3' UTR'ler, mRNA'nın bozulma sürecinde devreye giren ribonükleazlar ile etkileşime girdikleri için bu bölgelerin stabilite üzerine etkisi büyüktür (Tisen ve ark., 2015). mRNA'nın sitoplazmada konumlanmasında daha çok 3' UTR'nin etkili olduğu düşünülmektedir (Zhao ve ark., 1999).

Poli A Kuyruğu

Poli (A) kuyruğu, mRNA'nın translasyonunda ve mRNA'nın enzimatik stabilitesinde önemli bir rol oynar. Aynı zamanda, Cap bölgesi eklenmesinde ve mRNA bozulmasının önlenmesinde de görevlidir (Mugridge ve ark., 2018).

Holtkamp ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada mRNA'nın dayanıklılığında rol oynayan 3' ucundaki Poli (A) kuyruğunun yapısı ile translasyon verimi arasında bir ilişki olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada 120 baza kadar olan ve adozin ile biten bir Poli (A) kuyruğunun daha az sayılı ya da adozin ile bitmeyen bir kuyruğa göre çok daha verimli olduğu belirtilmiştir (Holtkamp ve ark., 2006). Yapılan başka bir çalışmada ise mRNA'nın Poli (A) kuyruk uzunluğundaki 120 baza kademeli bir artışın, protein ekspresyon seviyesini orantılı bir şekilde artırdığı, 120'nin üzerindeki bazların sayısındaki bir artışın ise protein ekspresyonunu daha fazla artırmadığı gösterilmiştir (Kormann ve ark., 2011).

Poli (A) kuyruğu, DNA şablonundaki Poli (A) kuyruğunu kodlayarak veya rekombinant Poli (A) polimeraz kullanılarak transkripsiyondan sonra mRNA'ya eklenebilir. Bununla birlikte, rekombinant poli (A) polimeraz ile poliadenilasyon, değişken poli (A) kuyruk uzunluğu ve dolayısıyla çeşitli uzunluklarda poliadenile mRNA ile sonuçlanır (Wadhwa ve ark., 2020). Bu nedenle, tercih edilen yaklaşım, Poli (A) kuyruk kodlayan DNA şablonlarından transkribe edilen mRNA'lardan iyi tanımlanmış uzunlukta Poli (A) kuyrukların üretilmesidir (Holtkamp ve ark., 2006).

Nükleotid Modifikasyonu

Nükleotid baz modifikasyonu, RNA bazlı aşılara yönelik doğuştan gelen antiviral bağışıklığın etkisini azaltarak aşının etkinliğini artırabilir. Doğal mRNA, PRR'leri uyarabilirken, 2-tiouridin, 5-metilsitidin veya psödouridin gibi baz modifikasyonlarına sahip mRNA, doğuştan gelen bağışıklığın etkilerini sınırlayabilir (Karikó ve ark., 2005). Ek olarak, bu tür değişiklikler mRNA'yı ribonükleazlar tarafından degradasyondan koruyabilir ve böylece antijen ekspresyonunu artırabilir (Yin ve ark., 2014). Bu nedenle, mRNA'nın belirli nükleotid baz modifikasyonları, PRR'lerin etkileşimini ve/veya aktivitesini, dolayısıyla tip I IFN indüksiyonunu modüle ederek mRNA aşılarının etkinliğini artırabilir.

mRNA'daki kodlama bölgelerinin nükleotid içeriği, hücrelerdeki gen ekspresyonunun büyüklüğü üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Örneğin, viral genlerin aksine, memeli genlerinin kodonları üçüncü kodon pozisyonunda sıklıkla bir Guanin (G) veya bir Sitozin (C) sunar ve üçüncü pozisyonunda Adenin (A) veya Timin (T) sunanlara göre daha iyi bir verimlilikle eksprese edilir (Zhong ve ark., 2005).

mRNA'NIN İLETİMİ

mRNA bazlı aşılarda umut verici potansiyeline rağmen, mRNA bazlı aşılarda umut verici potansiyeline rağmen, mRNA'nın sitozole etkili hücre içi iletimi, özellikle sistemik olarak uygulanan mRNA için büyük bir engel oluşturmaya devam etmektedir. mRNA'nın 105-106 Da olan büyük moleküler ağırlığı ve yüksek negatif yük yoğunluğu, mRNA'nın hücrel membranlardan geçişini zorlaştırır (Kowalski ve ark., 2019). Bir iletim sistemi yokluğunda mRNA'nın absorpsiyonunun son derece düşük olduğu ve mRNA'nın yarı ömrünün yaklaşık 7 saat olduğu iyi bilinmektedir (Sharova ve ark., 2009). Dahası mRNA, 5' eksonükleazlar, 3' eksonükleazlar ve endonükleazlar tarafından parçalanmaya oldukça yatkın olan, doğası gereği kararsız bir moleküldür (Houseley ve Tollervey, 2009). Sonuç olarak, iletim sistemleri, mRNA'nın terapötik etki bölgesine in vitro ve in vivo hücre içi iletimi için zorunludur (Deering ve ark., 2014).

Mikroenjeksiyonlar (Golombek ve ark., 2018), RNA yamaları (Koh ve ark., 2018), gen tabancası bazlı uygulama (Tavernier ve ark., 2011), protamin yoğunlaşması (Zhang ve ark., 2018), RNA

adjuvanları (Schlake ve ark., 2012) ve lipidlerden ve/veya polimerlerden oluşan nanopartiküllerde mRNA'nın kapsüllenmesi gibi geliştirilmiş enjeksiyon stratejileri de dahil olmak üzere mRNA iletimini iyileştirmek için farklı stratejiler araştırılmıştır (Mukherjee ve ark., 2019).

Viral Vektörler

mRNA iletimi için genellikle genetiği değiştirilmiş virüsler kullanılır. Bu virüslerin genleri, kısmen veya tamamen model genlerle ikame edilir. Pozitif polariteli RNA virüsleri, konakçı ribozomlar tarafından doğrudan ilgilenen proteinlere dönüştürülebilen bir genomik sekansa sahiptir. Özellikle, mRNA iletimi için Alfavirüsler (Ehrenguber ve ark., 2011), Pikornavirüsler (Rozovics ve ark., 2012) ve Flavivirüsler (Schott ve ark., 2016) kullanılır. Yüksek fakat geçici gen ekspresyon seviyeleri, geniş konak hücre özgüllüğü, düşük patojenitesi ve güçlü immünojenitesi nedeniyle Paramyxoviridae ailesine ait Sendai virüsü de tercih edilen vektörler arasındadır (Nakanishi ve Otsu, 2012).

Viral vektörlerin kullanılması, diğerlerinin yanı sıra genom entegrasyonu ve olası konak reddi (immünojenite ve sitotoksiste) gibi önemli dezavantajları içerir (Tezel ve ark., 2004). Bu nedenle mRNA iletimi için viral olmayan vektörlere olan ihtiyaç daha ön plandadır (Ramamoorth ve Narvekar, 2015).

Polimer Tabanlı Vektörler

Polimerler, suda çözünebilir ve amino gruplarıyla ilişkili yüksek yoğunluklu pozitif yük sergileyebilen in vitro transfeksiyon için etkinliği kanıtlanmış mRNA taşıyıcılarıdır (Gary ve ark., 2011).

Dietilaminoetil (DEAE) dekstran IVT mRNA iletimi için test edilen ilk polimerdir (Koch, 1973). Fakat günümüzde polyethylenimine (PEI) ve türevleri en yaygın olarak kullanılan katyonik polimerler arasındadır (Ulkoski ve ark., 2019).

Katyonik polimer kullanan mRNA aşısının güvenli ve etkili transfeksiyonu ilk kez, siklodekstrine konjuge edilen 2 kDa PEI'nin intranasal uygulaması ile elde edilmiştir. PEI'ye konjuge edilen siklodekstrin, poliamin omurgasındaki yük yoğunluğunun delokalizasyonunu sağlayarak sitotoksiteyi azaltmıştır ve aynı zamanda protonlanabilen grupları korumuştur. Bu da transfeksiyonun iyileşmesine neden olmuştur (Ilarduya

ve ark., 2010).

Biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerden oluşan polimerik nanopartiküller, örneğin poli laktik-ko-glikolik asit (PLGA), hidrofobik ve pozitif yüklü moleküllerin dahil edilmesi için çok uygundur. İyi kolloidal stabilite, düşük toksisite ve sürekli salım olasılığı sağlarlar. Bununla birlikte, PLGA'nın fizyolojik pH'daki anyonik yapısı nedeniyle mRNA kapsülleme verimliliği çok düşüktür (Rosenkranz ve Sobolev, 2015).

Lipid Tabanlı Vektörler

Lipidlere veya lipid benzeri bileşiklere (lipidoidler) dayalı vektörler, en yaygın olarak kullanılan viral olmayan gen taşıyıcıları sınıfına dahildir (Kowalski ve ark., 2019). Lipozomlar veya lipid nanopartiküller (LNP'ler) oluşturmak için çeşitli sentetik ve doğal yoldan türetilmiş lipidler kullanılmıştır ve bu vektörlerin mRNA bazlı aşuları verimli bir şekilde ilettiği kanıtlanmıştır (Wadhwa ve ark., 2020).

Fosfolipitlerin sulu sistemlerde dağıldığında kendiliğinden birleşerek oluşturduğu kapalı zar yapılar lipozom olarak adlandırılır (Akbarzadeh ve ark., 2013). Lipozomlar, bir çekirdeği çevreleyen hücre zarı yapısını taklit eder ve en az bir fosfolipid tabakasından oluşurlar. Lipid nanopartiküller ise genellikle amin grupları içeren katyonik lipitler kullanılarak formüle edilir. Bu amin gruplarının sağladığı pozitif yük ile katyonik lipidler, polianyonik mRNA'yı kendiliğinden kapsüllemektedir ve bu nedenle mRNA'nın lipofeksiyonu için tek başına veya kombinasyon halinde kullanılmıştır (Hajj ve Whitehead, 2017).

Peptid Tabanlı Vektörler

Peptid bazlı sistemler, mRNA iletimi için sunabileceği avantajlar nedeniyle son dönemlerde ivme kazanmaktadır. Polimerler gibi hem tek başına hem de diğer malzemelerle kombinasyon halinde peptid bazlı uygulama sistemleri denenmiştir. Yakın bir zamanda, daha iyi bir translasyon verimi elde etmek amacıyla, mRNA stabilitesi arttırmak için hem polimer (PLA) bazlı miselleri hem de katyonik bir füzojenik peptidi (RALA) birleştiren yeni bir polimer-peptid hibrit mRNA iletim nanoplatformu tanıtılmıştır. Bu nanopartikülün , mRNA'yı serum nükleaz bozunmasına karşı koruduğu ve DC transfeksiyonu sağladığı bildirilmiştir (Lacroix ve ark., 2020).

ÜRETİM AŞAMALARI

Hem geleneksel hem de kendi kendini çoğaltan mRNA aşları, tıpkı ökaryotik bir mRNA gibi Cap bölgesi, 5' ve 3' translasyona uğramayan bölgeler, açık okuma bölgesi ve Poli (A) kuyruğu gibi yapısal bölgelerden oluşur (Geall ve ark., 2013). Her iki tip mRNA da, doğrusallaştırılmış/lineer bir pDNA şablonundan bir enzimatik transkripsiyon reaksiyonu kullanılarak üretilir (Pardi ve ark., 2013).

mRNA üretimindeki ilk adım, DNA'ya bağımlı bir RNA polimeraza (örneğin, T7, SP6 veya T3) yüksek bağlanma afinitesine sahip bir promoter sekansı ve spesifik mRNA aşısını kodlayan sekans içeren bir pDNA'nın oluşturulmasıdır. pDNA, bir restriksiyon enzimi ile

doğrusallaştırılır/lineerleştirilir ve DNA'ya bağımlı bir RNA polimeraz kullanılarak bir in vitro transkripsiyon reaksiyonu için bir şablon olarak kullanılır. Enzim, şablonun sonundan çıkana kadar RNA transkriptini uzatarak şablon boyunca hareket eder (Maruggi ve ark., 2019). Şablon DNA daha sonra DNaz ile inkübasyon yoluyla bozulur ve mRNA'nın 5' ucuna enzimatik olarak bir Cap bölgesi [m7Gp3N] eklenir (Martin ve Moss, 1975). Alternatif olarak, tek adımlı bir prosedürde in vitro transkripsiyon reaksiyonu sırasında sentetik bir Cap analogu da eklenebilir (Stepinski ve ark., 2007). 5' uçlu bir yapının varlığı, in vivo verimli bir translasyon için çok önemlidir ve mRNA'yı hücre içi nükleaz sindiriminden

Tablo 1. Çeşitli Faz Aşamalarındaki mRNA Aşları (Wei, 2021).

mRNA Aşısı	Hastalık	Uygulama Yolu	Faz Aşaması	Sponsor
BNT162b2	SARS-CoV-2	Deltoid Kas	Kullanımı Onaylı	Pfizer- BioNTech
mRNA-1273	SARS-CoV-2	Deltoid Kas	Kullanımı Onaylı	Moderna
CV2nCoV/CVnCoV	SARS-CoV-2	İntramuskuler	Klinik Öncesi	CureVac
ARCoV	SARS-CoV-2	İntramuskuler	Faz 3	Walvax Biotechnology
CV7201	Kuduz	Parenteral	Faz 1	CureVaC
CV7202	Kuduz	İntramuskuler	Faz 1	CureVaC
mRNA-H10N8, mRNA-H7N9	İnfluenza	İntramuskuler	Faz 1	Moderna
mRNA-1345	Respiratorik Sinsityal Virüs	İntramuskuler	Faz 1	Moderna
mRNA-1653	Metapnömovirüs ve Parainfluenza Tip-3	İntramuskuler	Faz 1	Moderna
mRNA-1647	Sitomegalovirüs	İntramuskuler	Faz 3	Moderna
mRNA-1893	Zika Virüs	İntramuskuler	Faz 2	Moderna
mRNA-1189	Epstein-Barr Virüs	Parenteral	Klinik Öncesi	Moderna
HIV SAM ve HIV VRP	HIV	İntramuskuler	Klinik Öncesi	Biomedical Primate Research Centre
HIV-I Gag	HIV	Subkutan	Klinik Öncesi	Virology Unit, Institute of Tropical Medicine
SAM Vaccine	Streptococcus	İntramuskuler	Klinik Öncesi	GlaxoSmithKline

korur (Li ve Kiledjian, 2010).

Sentez tamamlandıktan sonra enzimler, kalıntı şablon DNA, kesilmiş transkriptler veya anormal çift sarmallı transkriptler dahil olmak üzere reaksiyon bileşenlerini çıkartılarak mRNA saflaştırılır. Çeşitli kontaminantlar spesifik olmayan doğal savunma mekanizmalarını uyarabilme potansiyeli taşıdığı için mRNA'nın saflaştırılması aşının etkinliği için oldukça önemlidir (Pascolo, 2004; Mu ve ark., 2018). Yapılan çalışmalar mRNA'nın çift sarmallı RNA (dsRNA) kirleticilerinden arındırılmasının in vivo translasyonu artırabileceğini ve doğuştan gelen bağışıklık aktivasyonunu azaltabileceğini göstermiştir (Karikó ve ark., 2011).

mRNA görünüm, içerik, bütünlük, kalıntı DNA, endotoksin kontaminasyonu ve sterilliği değerlendirmek için testlere tabi tutulur (Muralidhara ve ark., 2016). Bir sonraki basamakta bir iletim sistemi kullanılarak hedef hücrelere teslim edilen mRNA'nın istenen bir protein ürününe çevrilme yeteneğinin doğrulanması gerekir (Kramps ve Elbers, 2017). Bu yaklaşım sayesinde pek çok hastalığa karşı, diğer aşı platformlarına kıyasla daha kısa sürede ve ucuz maliyetle aşı geliştirilmesi mümkün olmuştur (Wadhwa ve ark., 2020). Çeşitli hastalıklara karşı geliştirilmekte olan aşı preparatları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Sonuç olarak, mRNA aşıları neredeyse otuz yıldır var olmasına rağmen, FDA tarafından şu an için sadece SARS-CoV-2 için mRNA aşılarının kullanımı onaylanmıştır. Bu hızlı onay sürecinin, yaşlılar, çocuklar, hamile kadınlar ve bağışıklığı baskılanmış hastalar gibi hassas gruplar için mRNA bazlı aşılardan güvenliği ile ilgili bazı endişeler yaratmasına rağmen faz 2 ve 3 klinik deneylerinden ortaya çıkan veriler, mRNA aşılarının bu gruplar için güvenli olduğunu göstermiştir (Riley, 2021; Shimabukuro ve ark., 2021). SARS-CoV-2 pandemi sürecindeki mRNA aşılarının başarıları, gelecekte mRNA aşı platformunun diğer bulaşıcı hastalıklara da genişletilebileceğini düşündürmektedir (Wei, 2021). mRNA belirli epitoplara ya da bütün protein antijenini kodlayabildiği için istenilen majör doku uygunluk kompleksi (MHC) moleküllerine göre tasarlanabilmekte ve bu sayede çok çeşitli patojenlere karşı aşı geliştirilebilmektedir (Maruggi ve ark., 2019). Genoma entegre olmaması, kısa sürede üretilmesi, sadece belirli bir süre aktif olması ve güçlü bağışıklık oluşturması

gibi avantajları sayesinde gelecekte hem beşeri hekimlikte hem de veteriner hekimliğinde kullanımı amacıyla yakın gelecekte mRNA aşılarda geliştirilmesi kaçınılmazdır. Hali hazırda çeşitli faz aşamalarında bulunan Kuduz (Aldrich ve ark., 2021), İnfluenza (Feldman ve ark., 2019), Parainfluenza-3 (Shaw ve ark., 2019), Sitomegalovirüs (National Library of Medicine [NLM], NCT05085366), HIV (Pollard ve ark., 2013), Zikavirüs (Richner ve ark., 2017) ve Ebola (Meyer ve ark., 2018) gibi hastalıklara karşı geliştirilen aşı çalışmalarının, klinik deneyleri tamamlaması neticesinde yakın gelecekte kullanımı onaylanarak mRNA aşı platformunun yeni üyeleri olarak karşımıza çıkması muhtemeldir.

KAYNAKLAR

- Akbarzadeh, A., Rezaei-Sadabady, R., Davaran, S., Joo, S. W., Zarghami, N., Hanifehpour, Y., Samiei, M., Kouhi, M. & Nejati-Koshki, K. (2013). Liposome: Classification, preparation, and applications. *Nanoscale Research Letters*, 8(1), 102.
- Aldrich, C., Leroux-Roels, I., Huang, K. B., Bica, M. A., Loeliger, E., Schoenborn-Kellenberger, O., Walz, L., Leroux-Roels, G., von Sonnenburg, F. & Oostvogels, L. (2021). Proof-of-concept of a low-dose unmodified mRNA-based rabies vaccine formulated with lipid nanoparticles in human volunteers: A phase 1 trial. *Vaccine*, 39(8), 1310–1318.
- Deering, R. P., Kommareddy, S., Ulmer, J. B., Brito, L. A. & Geall, A. J. (2014). Nucleic acid vaccines: Prospects for non-viral delivery of mRNA vaccines. In *Expert Opinion on Drug Delivery* Vol. 11, Issue 6, pp. 885–899.
- Desmettre P. (2019). Veterinary Vaccines in the Development of Vaccination and Vaccinology. *History of Vaccine Development*, 30,329-338.
- Ehrengruber, M. U., Schlesinger, S. & Lundstrom, K. (2011). Alphaviruses: Semliki forest virus and sindbis virus vectors for gene transfer into neurons. *Current Protocols in Neuroscience*, Chapter 4 (SUPPL.57).
- Feldman, R. A., Fuhr, R., Smolenov, I., Ribeiro, A., Panther, L., Watson, M., Senn, J. J., Smith, M., Almarsson, Örn, Pujar, H. S., Laska, M. E., Thompson, J., Zaks, T. & Ciaramella, G. (2019). mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses of pandemic potential are immunogenic and well tolerated in healthy adults in phase 1 randomized clinical trials. *Vaccine*, 37(25), 3326–3334.
- Gary, D. J., Lee, H., Sharma, R., Lee, J. S., Kim, Y., Cui, Z. Y., Jia, D., Bowman, V. D., Chipman, P. R., Wan, L., Zou, Y., Mao, G., Park, K., Herbert, B. S.,

- Konieczny, S. F. & Won, Y. Y. (2011). Influence of nano-carrier architecture on in vitro siRNA delivery performance and in vivo biodistribution: Polyplexes vs micelleplexes. *ACS Nano*, 5(5), 3493–3505.
- Geall, A. J., Mandl, C. W. & Ulmer, J. B. (2013). RNA: The new revolution in nucleic acid vaccines. In *Seminars in Immunology* (Vol. 25, Issue 2, pp. 152–159). Academic Press.
- Golombek, S., Pilz, M., Steinle, H., Kochba, E., Levin, Y., Lunter, D., Schlensak, C., Wendel, H. P. & Avci-Adali, M. (2018). Intradermal Delivery of Synthetic mRNA Using Hollow Microneedles for Efficient and Rapid Production of Exogenous Proteins in Skin. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 11, 382–392.
- Grudzien-Nogalska, E., Stepinski, J., Jemielity, J., Zuberek, J., Stolarski, R., Rhoads, R. E. & Darzynkiewicz, E. (2007). Synthesis of Anti-Reverse Cap Analogs (ARCAs) and their Applications in mRNA Translation and Stability. In *Methods in Enzymology* Vol. 431, pp. 203–227.
- Hajj, K. A. & Whitehead, K. A. (2017). Tools for translation: Non-viral materials for therapeutic mRNA delivery. In *Nature Reviews Materials* (Vol. 2).
- Holtkamp, S., Kreiter, S., Selmi, A., Simon, P., Koslowski, M., Huber, C., Türeci, Ö. & Sahin, U. (2006). Modification of antigen-encoding RNA increases stability, translational efficacy, and T-cell stimulatory capacity of dendritic cells. *Blood*, 108(13), 4009–4017.
- Houseley, J. & Tollervy, D. (2009). The Many Pathways of RNA Degradation. In *Cell* Vol. 136, Issue 4, pp. 763–776
- Iavarone, C., O'hagan, D. T., Yu, D., Delahaye, N. F. & Ulmer, J. B. (2017). Mechanism of action of mRNA-based vaccines. *Expert Review of Vaccines*, 16(9), 871–881.
- Karikó, K., Buckstein, M., Ni, H. & Weissman, D. (2005). Suppression of RNA recognition by Toll-like receptors: The impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA. *Immunity*, 23(2), 165–175.
- Karikó, K., Muramatsu, H., Ludwig, J. & Weissman, D. (2011). Generating the optimal mRNA for therapy: HPLC purification eliminates immune activation and improves translation of nucleoside-modified, protein-encoding mRNA. *Nucleic Acids Research*, 39(21), 142.
- Koh, K. J., Liu, Y., Lim, S. H., Loh, X. J., Kang, L., Lim, C. Y. & Phua, K. K. L. (2018). Formulation, characterization and evaluation of mRNA-loaded dissolvable polymeric microneedles (RNApatch). *Scientific Reports*, 8(1).
- Kormann, M. S. D., Hasenpusch, G., Aneja, M. K., Nica, G., Flemmer, A. W., Herber-Jonat, S., Huppmann, M., Mays, L. E., Illenyi, M., Schams, A., Griese, M., Bittmann, I., Handgretinger, R., Hartl, D., Rosenecker, J. & Rudolph, C. (2011). Expression of therapeutic proteins after delivery of chemically modified mRNA in mice. *Nature Biotechnology*, 29(2), 154–159.
- Kowalski, P. S., Rudra, A., Miao, L. & Anderson, D. G. (2019). Delivering the Messenger: Advances in Technologies for Therapeutic mRNA Delivery. In *Molecular Therapy* Vol. 27, Issue 4, pp. 710–728.
- Kramps, T. & Elbers, K. (2017). Introduction to RNA vaccines. In *Methods in Molecular Biology*
- Kreiter, S., Selmi, A., Diken, M., Sebastian, M., Osterloh, P., Schild, H., Huber, C., Türeci, Ö. & Sahin, U. (2008). Increased Antigen Presentation Efficiency by Coupling Antigens to MHC Class I Trafficking Signals. *The Journal of Immunology*, 180(1), 309–318.
- Lacroix, C., Humanes, A., Coiffier, C., Gignes, D., Verrier, B. & Trimaille, T. (2020). Polylactide-Based Reactive Micelles as a Robust Platform for mRNA Delivery. *Pharmaceutical Research*, 37(2).
- Li, Y. & Kiledjian, M. (2010). Regulation of mRNA decapping. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, 1(2), 253–265.
- Martin, S. A. & Moss, B. (1975). Modification of RNA by mRNA guanylyltransferase and mRNA (guanine 7) methyltransferase from vaccinia virions. *Journal of Biological Chemistry*, 250(24), 9330–9335.
- Maruggi, G., Zhang, C., Li, J., Ulmer, J. B. & Yu, D. (2019). mRNA as a Transformative Technology for Vaccine Development to Control Infectious Diseases. *Molecular Therapy*, 27(4), 757–772.
- McCaffrey, A. P. (2019). RNA Epi-transcriptome: Role of the 5' Cap. *Genetic Engineering and Biotechnology News*, 39(5).
- Mu, X., Greenwald, E., Ahmad, S. & Hur, S. (2018). An origin of the immunogenicity of in vitro transcribed RNA. *Nucleic Acids Research*, 46(10), 5239–5249.
- Mugridge, J. S., Collier, J. & Gross, J. D. (2018). Structural and molecular mechanisms for the control of eukaryotic 5'–3' mRNA decay. *Nature Structural and Molecular Biology*, 25(12), 1077–1085.
- Mukherjee, A., Waters, A. K., Kalyan, P., Achrol, A. S., Kesari, S. & Yenugonda, V. M. (2019). Lipid-polymer hybrid nanoparticles as a next-generation drug delivery platform: State of the art, emerging technologies, and perspectives. In *International Journal of Nanomedicine* Vol. 14, pp. 1937–1952.
- Muralidhara, B. K., Baid, R., Bishop, S. M., Huang, M., Wang, W. & Nema, S. (2016). Critical considerations for

- developing nucleic acid macromolecule based drug products. In *Drug Discovery Today* Vol. 21, Issue 3, pp. 430–444.
- Nakanishi, M. & Otsu, M. (2012). Development of Sendai Virus Vectors and their Potential Applications in Gene Therapy and Regenerative Medicine. *Current Gene Therapy*, 12(5), 410–416.
- National Library of Medicine (2021). A Study to Evaluate the Efficacy, Safety, and Immunogenicity of mRNA-1647 Cytomegalovirus (CMV) Vaccine in Healthy Participants 16 to 40 Years of Age. Erişim tarihi: 21 Aralık 2021, <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05085366>
- Pardi, N., Muramatsu, H., Weissman, D. & Karikó, K. (2013). In vitro transcription of long RNA containing modified nucleosides. *Methods in Molecular Biology*, 969, 29–42.
- Pascolo, S. (2004). Messenger RNA-based vaccines. In *Expert Opinion on Biological Therapy* Vol. 4, Issue 8, pp. 1285–1294.
- Pollard, C., Rejman, J., De Haes, W., Verrier, B., Van Gulck, E., Naessens, T., De Smedt, S., Bogaert, P., Grooten, J., Vanham, G. & De Koker, S. (2013). Type I IFN counteracts the induction of antigen-specific immune responses by lipid-based delivery of mRNA vaccines. *Molecular Therapy*, 21(1), 251–259.
- Ramamoorthi, M. & Narvekar, A. (2015). Non viral vectors in gene therapy - An overview. In *Journal of Clinical and Diagnostic Research* Vol. 9, Issue 1, pp. 01–06.
- Richner, J. M., Himansu, S., Dowd, K. A., Butler, S. L., Salazar, V., Fox, J. M., Julander, J. G., Tang, W. W., Shresta, S., Pierson, T. C., Ciaramella, G. & Diamond, M. S. (2017). Modified mRNA Vaccines Protect against Zika Virus Infection. *Cell*, 169(1), 176.
- Riley, L. E. (2021). mRNA Covid-19 Vaccines in Pregnant Women. *New England Journal of Medicine*, 384(24), 2342–2343.
- Rosenkranz, A. A. & Sobolev, A. S. (2015). Polyethylenimine-based polyplex nanoparticles and features of their behavior in cells and tissues. In *Russian Chemical Bulletin* (Vol. 64, Issue 12, pp. 2749–2755).
- Rozovics, J. M., Chase, A. J., Cathcart, A. L., Chou, W., Gershon, P. D., Palusa, S., Wilusz, J. & Semler, B. L. (2012). Picornavirus modification of a host mRNA decay protein. *MBio*, 3(6).
- Schlake, T., Thess, A., Fotin-Mleczek, M. & Kallen, K. J. (2012). Developing mRNA-vaccine technologies. *RNA Biology*, 9(11), 1319–1330.
- Schott, J. W., Morgan, M., Galla, M. & Schambach, A. (2016). Viral and synthetic RNA vector technologies and applications. In *Molecular Therapy* (Vol. 24, Issue 9, pp. 1513–1527).
- Sharova, L. V., Sharov, A. A., Nedorezov, T., Piao, Y., Shaik, N. & Ko, M. S. H. (2009). Database for mRNA half-life of 19 977 genes obtained by DNA microarray analysis of pluripotent and differentiating mouse embryonic stem cells. *DNA Research*, 16(1), 45–58.
- Shaw, C., Lee, H., Knightly, C., Kalidindi, S., Zaks, T., Smolenov, I. & Panther, L. (2019). 2754. Phase 1 Trial of an mRNA-Based Combination Vaccine Against hMPV and PIV3. *Open Forum Infectious Diseases*, 6(Supplement_2), S970–S970.
- Shimabukuro, T. T., Kim, S. Y., Myers, T. R., Moro, P. L., Oduyebo, T., Panagiotakopoulos, L., Marquez, P. L., Olson, C. K., Liu, R., Chang, K. T., Ellington, S. R., Burkel, V. K., Smoots, A. N., Green, C. J., Licata, C., Zhang, B. C., Alimchandani, M., Mba-Jonas, A., Martin, S. W., Meaney-Delman, D. M. (2021). Preliminary Findings of mRNA Covid-19 Vaccine Safety in Pregnant Persons. *New England Journal of Medicine*, 384(24), 2273–2282.
- Tavernier, G., Andries, O., Demeester, J., Sanders, N. N., De Smedt, S. C. & Rejman, J. (2011). mRNA as gene therapeutic: How to control protein expression. In *Journal of Controlled Release* Vol. 150, Issue 3, pp. 238–247.
- Tezel, A., Dokka, S., Kelly, S., Hardee, G. E. & Mitragotri, S. (2004). Topical delivery of anti-sense oligonucleotides using low-frequency sonophoresis. *Pharmaceutical Research*, 21(12), 2219–2225.
- Tisen, X., Xuegui, L., Dejie, J., Zhaohui, X. & Zhongmin, D. (2015). Mechanism of 5'-to-3' degradation of eukaryotic and prokaryotic mRNA. In *Yi chuan = Hereditas / Zhongguo yi chuan xue hui bian ji* (Vol. 37, Issue 3, pp. 250–258).
- Tros de Ilarduya, C., Sun, Y. & Düzgüneş, N. (2010). Gene delivery by lipoplexes and polyplexes. In *European Journal of Pharmaceutical Sciences* Vol. 40, Issue 3, pp. 159–170.
- Wadhwa, A., Aljabbari, A., Lokras, A., Foged, C. & Thakur, A. (2020). Opportunities and challenges in the delivery of mRNA-based vaccines. *Pharmaceutics*, 12(2).
- Wei, J. (2021). The Development of mRNA Vaccines for Infectious Diseases : Recent Updates. 5271–5285.
- Weissman, D. (2014). mRNA transcript therapy. *Expert Review of Vaccines*, 14(2), 265–281.
- Yin, H., Kanasty, R. L., Eltoukhy, A. A., Vegas, A. J., Dorkin, J. R. & Anderson, D. G. (2014). Non-viral vectors for gene-based therapy. In *Nature Reviews Genetics* Vol. 15, Issue 8, pp. 541–555.

- Youn, H. & Chung, J. K. (2015). Modified mRNA as an alternative to plasmid DNA (pDNA) for transcript replacement and vaccination therapy. In *Expert Opinion on Biological Therapy* Vol. 15, Issue 9, pp. 1337–1348.
- Zhang, R., Men, K., Zhang, X., Huang, R., Tian, Y., Zhou, B., Yu, C., Wang, Y., Ji, X., Hu, Q. & Yang, L. (2018). Delivery of a modified mRNA encoding IL-22 binding protein (IL-22BP) for colon cancer gene therapy. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 14(7), 1239–1251.
- Zhao, J., Hyman, L. & Moore, C. (1999). Formation of mRNA 3' Ends in Eukaryotes: Mechanism, Regulation, and Interrelationships with Other Steps in mRNA Synthesis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63(2), 405–445.
- Zhong, F., Cao, W., Chan, E., Tay, P. N., Cahya, F. F., Zhang, H. & Lu, J. (2005). Deviation from major codons in the Toll-like receptor genes is associated with low Toll-like receptor expression. *Immunology*, 114(1), 83–93.



Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni

Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association

e-ISSN: 2667-8381

Ömer ÇAKMAK^{1a}
Ulaş ACARÖZ^{2b}
Hüseyin GÜN^{1c}

¹İstanbul Esenyurt Üniversitesi
Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu,
Gastronomi ve Mutfak Sanatları
Bölümü, İstanbul

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner
Fakültesi Besin/Gıda Hijyeni ve
Teknolojisi A.D., Afyon

ORCID^a: 0000-0002-7898-1764
ORCID^b: 0000-0002-1533-4519
ORCID^c: 0000-0002-1879-4414

*Sorumlu Yazar: Ömer ÇAKMAK
E-Posta: omercakmak@esenyurt.edu.tr

Geliş Tarihi: 11.01.2022
Kabul Tarihi: 07.04.2022

13 (1): 11-25, 2022
DOI: 10.38137/vftd.1056066

Makale atfı

Çakmak, Ö ve ark. (2022). Halk sağlığı açısından önemli gıda kaynaklı viral etkenler, Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni, 13 (1), 11-25. DOI: 10.38137/vftd.1056066

HALK SAĞLIĞI AÇISINDAN ÖNEMLİ GIDA KAYNAKLI VİRAL ETKENLER

ÖZET. Son yıllarda gıda kaynaklı viral enfeksiyonlar artan bir önem kazanmaktadır. Bu derleme çalışması, gıda kaynaklı virüsler ile ilgili literatür ve bulgular hakkında bir güncelleme sağlamaktadır. Virüsler düşük enfeksiyon dozuna sahip olan stabil ve enfektivite kaybı olmaksızın gıdalarda uzun süre kalabilen zorunlu hücre içi mikroorganizmalardır. Bu nedenle gıdalar viral etkenlerin insanlara bulaşmasında vektör durumundadır. Mide asiditesi, bağırsak enzimleri ile alkali şartlar ve konakçı savunma sistemi gibi olumsuz koşullarda canlılıklarını sürdürebilirler. İnsan norovirüsü (HuNoV), insan rota virüsü (HRV), hepatit A virüsü (HAV), hepatit E virüsü (HEV), insan astrovirüsü (HAsTV), Aichi virüsü (AiV), sapovirüs (SaV), insan adenovirüsü (HAdV) ve enterovirüs (EV) halk sağlığı açısından gıda kaynaklı en önemli viral etkenler olarak bilinmektedir. Ayrıca, bulaşıcı kuş gribi virüsü (H5N1) ve Nipah virüsü (NiV) hem insan hem de hayvanlarda son yıllarda ciddi hastalık nedeni olarak görülen önemli zoonoz etkenlerdir. Gıda kaynaklı viral enfeksiyonlarda bulaşma esas olarak, fekal-oral yolla olmaktadır. Dışkı ile kontamine sulardan avlanan kabuklu deniz ürünleri başta olmak üzere bazı gıdalar veya su viral etkenlerin potansiyel kaynağını oluşturmaktadır. Diğer taraftan enfekte personel tarafından hazırlanan çiğ veya yeterince pişirilmeden tüketilen ya da pişirildikten sonra kontamine olan gıdalar da önemli bulaşma kaynağıdır. Günümüzde gıda kaynaklı viral etkenlerin tespitinde PCR (Polymerase Chain Reaction) temelli yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Virüslerin kontrolünde gıda maddelerine uygulanan soğutma ve dondurma işlemlerinin haricinde son dönemlerde yüksek basınçlı işleme (HPP: High pressure processing), soğuk plazma (CP: Cold plasma), ultraviyole ışık (UV: Ultraviolet light), ışınlama ve darbeli elektrik alanı (PEF: Pulsed electric field) gibi termal olmayan teknolojik gıda işleme yöntemlerinin kullanımı da önem kazanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Enfeksiyon riski, Gıda kaynaklı virüsler, Halk Sağlığı, qRT-PCR.

IMPORTANT FOODBORNE VIRAL AGENTS IN TERMS OF PUBLIC HEALTH

ABSTRACT. In recent years, foodborne viral infections have acquired increasing importance. This study will provide an update on the literature and findings related to foodborne viruses. Viruses are obligate intracellular microorganisms that have a low infection dose, stable, and can remain in foods for a long time without loss of infectivity. For this reason, foods are vectors for the transmission of viral agents to humans. They can survive in adverse conditions such as stomach acidity, intestinal enzymes, alkaline conditions, and host defense system. Human norovirus (HuNoV), human rotavirus (HRV), hepatitis A virus (HAV), hepatitis E virus (HEV), human astrovirus (HAsTV), Aichi virus (AiV), sapovirus (SaV), human adenovirus (HAdV), and enterovirus (EV) are known as the most important viral agents of food origin in terms of public health. In addition, infectious avian influenza virus (H5N1) and Nipah virus (NiV) are important zoonotic agents that have been seen as the cause of serious disease in both humans and animals in recent years. In foodborne viral infections, transmission is mainly by the fecal-oral route. Some foods or water, especially shellfish caught from waters contaminated with feces, are potential sources of viral agents. On the other hand, raw or uncooked food prepared by infected personnel or contaminated after cooking is also an important source of contamination. Nowadays, PCR (Polymerase Chain Reaction)-based methods are widely used in the detection of food-borne viral agents. Apart from the cooling and freezing processes applied to foodstuffs in the control of viruses. In recent years, non-thermal technological food processing methods such as high pressure processing (HPP: High pressure processing), cold plasma (CP: Cold plasma), ultraviolet light (UV: Ultraviolet light), irradiation, and pulsed electric field (PEF: Pulsed electric field) usage is also gaining importance.

Keywords: Risk of infection, Foodborne viruses, Public Health, qRT-PCR.

GİRİŞ

Dünya genelinde son yıllarda bildirilen gıda kaynaklı hastalıklar arasında viral etkenlerin neden olduğu salgınlar artış göstermiştir (Miranda ve Schaffner, 2019). Birçok bakteri veya mantarın aksine gıda kaynaklı viral etkenler gıdalarda çoğalamazlar. Özellikle güvenli olmayan çiğ gıda, uygun olmayan sıcaklık ve depolama koşulları, gıdaların hatalı işlenmesi yöntemleri, yetersiz pişirilmesi, kişisel hijyen kurallarına yeterli düzeyde dikkat edilmemesi ve pişmiş gıdanın çiğ gıda ile çapraz kontaminasyonu gibi faktörler sonucunda viral etkenler bulaşabilmektedir. Tüketiciler, virüslerin konakçı dışında dirençlilik göstermelerine bağlı olarak kontamine gıdaları tüketmesi neticesinde gıda kaynaklı viral etkenler ile enfekte olabilirler (Newell ve ark., 2010; Sanchez ve Bosch, 2016).

İnsan norovirüsleri (HuNoV) ve hepatit A virüsü (HAV) gibi enterik virüsler dünya genelindeki birçok salgının nedenleri arasında yer almaktadır. Ayrıca insan astrovirüsü (HAstV), insan rotavirüsü (HRV), sapovirüs (SaV), enterovirüs (EV), insan adenovirüsü (HAdV) ve Aichi virüsü (AiV) diğer enterik viral etkenlerdendir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Avrupa Birliği (AB) ülkelerinde ortaya çıkan gıda kaynaklı hastalıkların nedenleri arasında sırasıyla % 45 ve % 13,1 düzeyinde enterik virüslerin etkili olduğu bildirilmiştir (Yeargin ve Gibson, 2018). 2014 yılında AB ülkelerinde görülen gıda kaynaklı hastalıkların % 20,4'üne viral etkenlerin neden olduğu ve ilk sırada yer aldığı bildirilmiştir (EFSA, 2015).

Virüsler; kontamine gıdaların tüketilmesi, dışkı ile kirlenmiş suların içilmesi ve enfekte kişilerle temas edilmesi sonucu insanlara bulaşarak hastalığa neden olmaktadır (Koopmans ve Duizer, 2004). Gıda kaynaklı viral etkenler genellikle asite, ısıya, kurutmaya, basınca, dezenfektanlara ve ultraviyole radyasyonu gibi farklı çevresel koşullara karşı değişen dayanıklılık göstermektedirler (Sanchez ve Bosch, 2016). Bundan dolayı virüslerin gıda üretiminin çeşitli aşamalarında gıdalara bulaşarak kirletebilmesi ihtimali oldukça yüksektir. Ancak virüslerin kontamine gıdalar yoluyla insanlara bulaşması oldukça karmaşıktır ve genellikle net değildir (Marsh ve ark., 2018).

Kontamine gıdaların tüketiminden sonra insanlara viral etkenlerin bulaşması; virüs stabilitesi, gıda işleme yöntemleri, enfeksiyon dozu ve konağın duyarlılığı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Bosch ve ark.,

2018). Gıda kaynaklı viral etkenlerin enfeksiyon dozunun genellikle düşük olması nedeniyle az miktarda virüs insanları enfekte edebilmektedir. Gıda kaynaklı viral etkenler, enfektivite kaybı olmadan gıdalarda uzun süre aktivitelerini sürdürebilirler. İnsanlara, atık suların neden olduğu kontamine gıdaları tüketmesi sonucunda birden fazla viral etken bulaşabilmektedir. Bunun neticesinde insanların aynı zaman diliminde birden fazla suş ile enfekte olabilmesi mümkündür (Sanchez ve Bosch, 2016).

GIDA KAYNAKLI VİRAL ETKENLER VE GIDA GÜVENLİĞİNDEKİ ROLLERİ

İnsanları enfekte edebilme özelliğine sahip olarak bilinen viral etkenler 22 familya olarak gruplandırılmıştır. Ayrıca, son yıllarda genetik materyal karakterizasyonuna imkan tanıyan moleküler tekniklerdeki gelişmeler ile çoğu tam olarak bilinmeyen birkaç yeni virüsün tanımlanmasına yol açmıştır (Jones ve ark., 2008).

Virüsler, zorunlu hücre içi parazitlerdir ve kendilerine özel canlı hücrenin dışında çoğalamazlar. Konakçı hücre, viral genetik bilgiyi kendisine ait gibi sahiplenmektedir. Virüslerin replikasyonu, konak hücre mekanizmaları kullanılarak viral genomun transkripsiyonu ve translasyonu ile gerçekleşir. Canlı hücreler dışındaki bir ortamda çoğalmaları mümkün değildir. Bu nedenle üretim, işleme, taşıma ve depolama aşamaları sırasında gıda ve sudaki viral partiküllerin sayısı artış meydana gelmez. Bu patojenleri içeren gıdalar ile kontamine olmayan gıdaların duyuşal özellikleri aynıdır (Koopmans ve Duizer, 2004). Viral etkenlerin bulaşmasında sadece konakçı ile etkileşimi değil aynı zamanda dış ortamın etkisi de önemli rol oynamaktadır. Konakçı organizmanın dışında virüsler, kendi metabolizmaları olmadığından etkisizdirler. Viral etkenler, bulaşıcı ortamda ne kadar uzun süre canlı kalırlarsa, enfeksiyonun bulaşma ve yayılma olasılığı da o kadar yüksek olmaktadır (Rzezutka ve Cook, 2004).

Gıda kaynaklı viral etkenlerden ileri gelen enfeksiyonlarda klinik belirtiler hafif ishal tablosundan şiddetli ensefalite kadar değişmektedir. Gıda kaynaklı viral etkenlerin bulaşması; sıklıkla enfekte gıda çalışanları tarafından gıdanın kontaminasyonu, üretim sürecinde gıdanın kontaminasyonu (yumuşakçalar, kabuklu deniz ürünleri veya sebze/meyve üretiminde) ve çok nadir olarak, zoonotik bir viral etken içeren hayvansal kökenli ürünlerin tüketilmesiyle meydana gelmektedir. Birinci ve

ikinci bulaşma yolu, fekal-oral olarak bulaşan virüsler için geçerlidir. Bu bulaşmada öncelikle viral etkenler yutma işleminden sonra bağırsak epitelindeki hücrelere saldırmakta mütakiben aynı bölgede veya vücudun başka bir yerinde replikasyonu ile konakçıları enfekte etmektedirler (Rzezutka ve Cook, 2004).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO: World Health Organization) ile Gıda ve Tarım Örgütü (FAO: Food and Agriculture Organization), norovirüsleri (NoV), A grubu rotavirüsleri ve hepatit A virüslerini (HAV) öncelikli viral tehlikeler olarak belirtmişlerdir. Ortaya çıkan tehlikeler söz konusu olduğunda ise hepatit E virüsü (HEV), Nipah virüsleri, H5N1 kuş gribi virüsleri ve SARS koronavirüsü büyük önem taşımaktadır. Ayrıca, virüslere özgü gıda maddelerinin tüketilmesi sonucunda viral kaynaklı etkenlerin neden olduğu hastalıkların belirlenmesi, korunma ve kontrol önlemlerinin kapsamlı olarak değerlendirilmesi bakımından virus-gıda maddesi arasındaki ilişki önemli olmaktadır. Buna göre; kabuklu deniz hayvanlarındaki NoV ve HAV, taze ürünlerdeki NoV ve HAV A, hazır gıdalardaki NoV ve HAV, yiyecek hazırlamada kullanılan sudaki rotavirüsler dikkate alınmalıdır (WHO, 2008).

Gıda kaynaklı NoV salgınları genellikle gıda işletmelerindeki enfekte kişiler tarafından hazırlanan çiğ veya işlenmemiş (tüketime hazır gıdalar) gıdaların tüketilmesi sonucunda ortaya çıkmaktadır. NoV ve HAV salgınının en yaygın nedenleri arasında gıda işletmelerindeki personel hijyen hataları, enfekte bir kişi veya virüs taşıyıcısı tarafından gıdanın çıplak elle işlenmesi ve ellerin yeterince hijyenik olarak yıkanmaması yer almaktadır. Gıda işletmelerinde çalışanlar, tuvalet sonrası yetersiz kişisel hijyene bağlı olarak gıdaları kumuk (NoV) veya dışkı (NoV/HAV) ile kontamine edebilmektedir (Baert ve ark., 2011).

Meyveler, yeşil sebzeler, yumuşakçalar ve kabuklu deniz ürünleri gibi riskli gıdalar başlıca üretim sırasında kontamine olmaktadır. Kanalizasyon veya atık sular, NoV ve HAV gıda kaynaklı viral etkenlerin temel bulaşma kaynağıdır (WHO, 2008).

Gıda kaynaklı zoonoz enfeksiyonlar, enfekte bir hayvanın eti, sakatatı veya diğer ürünleri tüketildiğinde ortaya çıkmaktadır (Koopmans, 2012). Viral etkenler için nadir olarak görülen bir bulaşma şekli olmasına rağmen ortaya çıkan her hastalık salgınında araştırılması gerekmektedir. Özellikle hepatit E virüsü ile kontamine çiğ

veya az pişmiş olarak tüketilen enfekte domuz karaciğeri (hem evcil domuz hem de yaban domuzu) başlıca enfeksiyon kaynağı olması açısından önemlidir. Ayrıca patojenik kuş gribi virüsü (H5N1 virüsü), şiddetli akut solunum sendromu (SARS) ve Nipah virüs vakalarının gıda kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Luby ve ark., 2006; Trostle ve ark., 2008).

Son yıllarda ortaya çıkan zoonotik virüslerden Domuz gribi (İnfluenza A H1N1), Ebola ve Zika virüslerinin neden olduğu viral enfeksiyonların gıda kaynaklı potansiyel bulaşma şüpheleri dikkate alınmalıdır. Besin zincirindeki risklerin geniş kapsamlı değerlendirilmesi önemlidir. Bu nedenle enfeksiyonların bulaşmasında yalnızca kontamine gıda maddelerinin tüketilmesi değil aynı zamanda gıdada tehlike oluşturabilecek diğer bulaşabilme ihtimalleri bakımından; veteriner hekimler veya mezbaha çalışanı gibi meslek gruplarına dışkı ile kontamine etin işlenmesi sonucunda deri yoluyla, idrar, tükürük ve anne sütü gibi vücut salgıları göz önünde bulundurulmalıdır. Ebola, insanlara virüs ile enfekte olmuş hayvanlarla teması (genellikle kesme, pişirme, yeme sonrası) veya enfekte olmuş kişinin vücut sıvılarıyla bulaşmaktadır (Iturriza-Gomara ve O'Brien, 2016).

Ayrıca sivrisinekler, özellikle de *Aedes aegypti* ve *Aedes albopictus* türleri; Zika virüsü, Batı Nil virüsü (West Nile Virus), Dang virüsü (Dengue Virus), sarı humma (Yellow Fever) ve Chikungunya virüsünü primer olarak bulaştırabilirler (Silva ve ark., 2018). Zika virüsü ve Batı Nil virüsünün enfekte anneden bebeğe transplasental veya anne sütü ile bulaşma riski nadiren de olsa bulunmaktadır. Ancak, Zika ve Batı Nil enfeksiyonlarında bu yolla bulaşma potansiyeli detaylı olarak incelenmelidir (CDC, 2013; Mann ve ark., 2018). Chikungunya enfeksiyonuna neden olan sivrisinek türlerinden *Ae. Aegypti*'nin su depolama kapları ve banyolardaki beton su depoları gibi kapalı üreme alanlarını kullanmaları hastalığın bulaşmasında dikkate alınmalıdır (Silva ve ark., 2018).

GIDA KAYNAKLI VİRAL ETKENLER

Gıda kaynaklı viral etkenler ve özellikleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Bu virüsler tek veya çift sarmallı RNA ile DNA virüsleri olabilir (Pexara ve Govaris, 2020).

İnsan Norovirüsü (HuNoV): 1990 yılına kadar Norwalk virüsü olarak bilinen HuNoV, Caliciviridae familyası

Norovirus cinsi içinde sınıflandırılan zarfsız ve segmentsiz tek sarmallı pozitif RNA virüsüdür. Norovirüsler, dünya genelinde 30'dan fazla genotip bulunan yedi genogruba (GI'den GVII'ye) ayrılmaktadır. Bu genogruplardan GI, GII ve GIV genellikle insanları enfekte eder (Vinje, 2015). HuNoV insan enterik patojenidir ve dünya genelinde ortaya çıkan akut gastroenterit salgınlarının başlıca etiyolojik ajanı olarak kabul edilmektedir. ABD'ndeki bakteriyel olmayan gastroenterit salgınlarının çoğu (%90) HuNoV ile ilişkilidir (Neethirajan ve ark., 2017). AB'de ise HuNoV, gıda ve su kaynaklı salgınlarda sıklıkla tespit edilmiştir (EFSA, 2019). HuNoV oldukça bulaşıcıdır. Düşük bir enfeksiyöz doz (< 10 kopya/mL) yeterli olmaktadır. Etken aerosol damlacıklar, kişiden kişiye temas, su ve gıdalar vasıtasıyla yayılabilir. Gıda kaynaklı hastalığın 1-2 günlük bir inkubasyon süresi vardır. Hastalığın semptomları arasında kusma, mide yangısı, ateş veya ishal görülmektedir (Lee ve ark., 2013). HuNoV enfeksiyonu herhangi bir yaş grubunu etkileyebilmektedir. Özellikle 5 yaşın altındaki çocuklarda HuNoV enfeksiyonu yüksek oranda görülmektedir. HuNoV kaynaklı enfeksiyonların neden olabileceği ölüm vakalarında yaşlı bireyler yüksek risk grubunda yer almaktadır (Shah ve Hall, 2018).

İnsan HuNoV enfeksiyonu için çiğ kabuklu deniz ürünleri, meyveler ve sebzeler riskli gıdalardır (Robilotti ve ark., 2015). Kabuklu deniz ürünlerinde HuNoV'un görülme sıklığı 2000-2018 yılları arasında % 3,9 - 54 arasında değişmektedir (Razafimahefa ve ark., 2020).

İnsan Rotavirüsü (HRV): Rotavirüsler, Reoviridae familyası Rotavirus cinsi içerisinde yer alan zarfsız ve çift sarmallı RNA virüsüdür (Esona ve Gautam, 2015). Yedi gruba ayrılırlar (A-G); insanlar A-C grupları tarafından enfekte olurken, hayvanlar ise grupların geri kalanı tarafından enfekte olmaktadır. İnsan Rota Virüsü (HRV), özellikle bebeklerde ve 5 yaşın altındaki çocuklarda şiddetli gastroenterit ve ishale neden olur. Yetişkin ishal rotavirüsü olarak da bilinen Grup B rota virüsü, Çin'de her yaştan binlerce kişide ciddi ishal vakalarına neden olmuştur. Grup C rotavirüsü de birçok ülkede çocuklarda nadir ve sporadik ishal vakalarında tespit edilmiştir. İlk salgın olgusu 2005 yılında Japonya'da bildirilmiştir (Todd, 2015).

HRV için en yaygın bulaşma şekli; kişiden kişiye, kontamine çevresel yüzeylerle temas, dışkı ile kontamine su ve gıdaların alınması sonucu fekal-oral

yolla olmaktadır. İnsan ve hayvan rotavirüsünü içeren lağım suları; yüzey sularını, deniz ürünlerini, meyve ve sebzeleri kirletebilir. Ayrıca enfekte gıda işleyicileri gıdaları kontamine edebilir. Solunum damlacıkları yoluyla da hastalık bulaşabilmektedir (Koopmans ve Brown, 1999). Gıda veya sudaki 10-100 viral partikül dozları insanlarda enfeksiyona neden olabilir (Neethirajan ve ark., 2017). HRV enfeksiyonu için inkubasyon süresi yaklaşık 1-3 gündür. Hastalık tahminen 4-7 gün sürer ve tipik semptomlar arasında sulu ishal, karın ağrısı, kusma ve yüksek ölüm oranına yol açabilen dehidratasyon bulunmaktadır (Todd, 2015).

Hepatit A Virüsü (HAV): HAV, Picornaviridae familyası Hepatovirus cinsinde yer alan yaklaşık 27 nm. çapında zarfsız ve tek sarmallı pozitif bir RNA virüsüdür. İnsan suşları, genomik karakterizasyonlarına göre üç genotip (I-III) ve yedi alt genotip (IA-IIIIB) olarak gruplandırılır. HAV'ın enfeksiyöz dozu düşüktür (10-100 viral partikül) (Neethirajan ve ark., 2017).

İnkubasyon süresi boyunca (ortalama 15-50 gün, tahminen 28 gün) virüs vücuttan atılır. HAV; kişiden kişiye doğrudan temas, kontamine kabuklu deniz ürünleri, meyveler veya pişmemiş sebzeler ile suların tüketilmesi sonucunda fekal-oral yoluyla insanlar enfekte olabilmektedir (Bosch ve ark., 2018). HAV, ıspanakta 42 gün, yeşil soğanda 20 gün ve soğutulmuş istiridyelerde yaklaşık bir ay varlığını sürdürebilmektedir (Sun ve ark., 2012). Dondurulmuş kontamine kabuklu deniz ürünleri ve meyvelerden kaynaklanan HAV enfeksiyonu da rapor edilmiştir. HAV ısıya en dayanıklı viral etkindir. İnsanlardaki gastroenterit vakalarının % 2-7'sini enfekte su ve gıda kaynaklı HAV'nin neden olduğu bildirilmektedir (Neethirajan ve ark., 2017).

HAV enfeksiyonunun semptomları arasında ateş, baş ağrısı, yorgunluk, mide bulantısı ve karın ağrısı ile 2-3 haftalık hepatit belirtileri yer almaktadır. Enfeksiyondan sonra hayat boyu bağışıklık oluşmaktadır. HAV tek bir serotip olduğundan, HAV aşısı hastalığı önleyebilir. Bu amaçla 1995'ten beri ticari olarak kullanılan HAV aşısı mevcuttur (Sanchez, 2015).

Hepatit E Virüsü (HEV): HEV, hayvan ve insanları enfekte eden Hepeviridae familyasında yer alan tek sarmallı, zarfsız bir RNA virüsüdür. İnsanları enfekte eden HEV suşları, dört türe (A-D) ayrılan Orthohepevirus

cinsine aittir ve insan hastalığına sekiz genotip içeren A türü içindeki suşlar neden olmaktadır (Purdy ve ark., 2017). Bunlardan ikisi zorunlu insan patojenleridir (HEV1, HEV2). Diğer ikisi ise domuz ve yaban domuzu gibi çeşitli hayvan türlerinde sık görülen ve insanlarda zoonotik

enfeksiyonlara neden olmaktadır (HEV3, HEV4). Geri kalan genotipler sadece yaban domuzu (HEV5, HEV6) ile develerde (HEV7, HEV8) görünmektedir (Webb ve Dalton, 2019).

Tablo 1. Gıda kaynaklı viral etkenler.

Viral Etkenin Adı	Partikül/ Genom	Cins / Familya	Hastalık	Bulaşma Yolu/ Enfeksiyon Dozu	Sorumlu Gıdalar
İnsan Norovirüsü (HuNoV)	Zarfsız/ ssRNA	<i>Norovirus / Caliciviridae</i>	Akut gastroenterit	Fekal-oral/ 100 kopya/mL	Kabuklu deniz ürünleri, balık, büfe yemekler, sebzeler
İnsan Rotavirüsü (HRV)	Zarfsız/ dsRNA	<i>Rotavirus / Reoviridae</i>	Çocuklarda viral gastroenterit, yetiştirkin ishali	Fekal- oral, aerosol / 10-100 bulaşıcı viral partiküller	Deniz tarağı ve istiridyeye ve sebzeler
Hepatit A (HAV)	Zarfsız/ ssRNA	<i>Hepatovirus / Picornaviridae</i>	Hepatit A	Fekal- oral / 10-100 viral partiküller	Kabuklu deniz ürünleri, süt, sandviçler, meyve ve sebzeler
Hepatit E (HEV)	Zarfsız/ ssRNA	<i>Orthohepevirus / Hepeviridae</i>	Hepatit E	Fekal- oral/ Bilinmeyen	Çiğ/az pişmiş geyik ve domuz eti, karaciğer ve karaciğer sosisleri
İnsan Astrovirüsü (HAtVs)	Zarfsız/ ssRNA	<i>Mamastrovirus / Astroviridae</i>	Gastroenterit	Fekal- oral/ Bilinmeyen; nispeten düşük	Çift kabuklu yumuşakçalar, meyve ve sebzeler
Aichi virüsü (AiV)	Zarfsız/ ssRNA	<i>Kobuvirus / Picornaviridae</i>	Gastroenterit	Fekal- oral/ Bilinmeyen	Çiğ kabuklu deniz ürünleri
Sapovirüsü (SaV)	Zarfsız/ ssRNA	<i>Sapovirus / Caliciviridae</i>	Gastroenterit	Fekal- oral/ Bilinmeyen; muhtemelen HuNoV'a benzer düşük bulaşıcı doz	Kabuklu deniz ürünleri (istiridyeye ve deniz tarağı)
İnsan Adenovirüsü (HADV)	Zarfsız/ dsDNA	<i>Mastadenovirus / Adenoviridae</i>	Gastroenterit, ateş, solunum hastalık, konjonktivit, hemorajik sistit, meningoensefalit	Fekal- oral, inhalasyon ve damlacıklar ile kirlenmiş yüzeylerle direkt temas/ Bilinmeyen	Deniz ürünleri (kabuklu deniz ürünleri)
Enterovirüsü (EV)	Zarfsız/ ssRNA	<i>Enterovirus / Picornaviridae</i>	Kalp rahatsızlıkları el ayak ve Ağız Hastalığı (HFMD), doğumsal sepsis, menenjit/ensefalit	Fekal-oral ağırlıklı Solunum yolu; kontamine havadaki damlacıklar/ Düşük; 1-10 bulaşıcı viral partiküller	Kabuklu deniz ürünleri (çoğunlukla istiridyeye)
Kene Kaynaklı Ensefalitis Virüsü (KKEV)	Zarfsız/ ssRNA	<i>Falvivirus/ Flaviviridae</i>	Meningoensefalitis	Oral/Bilinmiyor	Çiğ keçi sütleri

ssRNA: tek iplikli RNA, dsDNA: tek iplikli DNA.

HEV, kontamine gıda ve suyun tüketilmesi sonucu fekal-oral yolla yayılır. HEV'nin bulaşıcı dozu tam olarak belirlenmemiştir. İnkubasyon süresi ortalama 15-60 gündür. HEV enfeksiyonu genellikle akut hepatite yol açar. Hastalığın ilk evresinde (1-10 gün) karın ağrısı, bulantı, kusma, ateş ile grip benzeri hastalık belirtileri ortaya çıkarken, ikinci evresinde (15-40 gün) ise sarılık, iştahsızlık, hepatomegali, miyalji ve koyu renkli idrar ile karakterize belirtiler görülmektedir (Todd, 2015). Özellikle bağışıklığı baskılanmış kişilerde hastalık kronikleşir. Hamile ve önceden karaciğer hastalığı olan hastalarda ölüm oranları yüksek olabilir (Bosch ve ark., 2016). HEV, dünya genelinde ortaya çıkan akut viral hepatitin en yaygın nedeni olarak kabul edilmektedir (Webb ve Dalton, 2019). Hastalığın bulaşmasında kontamine çiğ veya az pişmiş geyik ve domuz etinin tüketimi rol oynamaktadır (Sanchez-Vega, 2014). Ayrıca etken domuz karaciğeri ve sosislerinde tespit edilmiştir (Di Bartolo ve ark., 2012). Enfekte hayvan dışkısu içeren sular sebzelerin, kabuklu deniz hayvanları ile içme suyunun kontaminasyonuna neden olmaktadır (Gao ve ark., 2015).

İnsan Astrovirüsü (HAstV): HAstV, Astroviridae familyası Mamastrovirus cinsinde bulunan küçük zarfsız, tek sarmallı pozitif RNA virüsleridir. Klasik HAstV, 8 serotip olarak gruplandırılmıştır. Dünya genelinde çocuklarda görülen akut bakteriyel olmayan gastroenterit enfeksiyonlarının % 2- 9'undan sorumludur. Bununla birlikte, bağışıklığı baskılanmış ve yaşlı kişilerde de enfeksiyonlar bildirilmiştir. Tip 1 astrovirüsler, epidemiyolojik bakımdan 8 serotipin en yaygın olanıdır (Burbelo ve ark., 2011). Enfeksiyon, asıl fekal-oral yolla, ya doğrudan ya da gıda alımı yoluyla bulaşır. Ayrıca HAstV ile kontamine içme suyu, tatlı yüzey suları ve deniz suyu hastalığın bulaşmasında rol oynamaktadır. HAstV enfeksiyonu 3-4 günlük bir inkubasyondan sonra tipik olarak, kusma, ateş, iştahsızlık ve karın ağrısı belirtileri ile 2-3 gün hafif seyreden sulu ishale neden olmaktadır. Enfeksiyonlar genellikle sınırlı olarak görülmesine rağmen sistematik yayılarak bağışıklığı baskılanmış hastalarda ciddi enfeksiyonlara yol açabilmektedir (Bosch ve ark., 2016). Son yıllarda dünya genelinde gıda kaynaklı büyük HAstV salgınları gözlemlenmiştir. HAstV'lerle kontamine kirli sulardaki çift kabuklu yumuşakçaların tüketiminden kaynaklanan birkaç salgın vakası rapor edilmiştir (Todd, 2015).

Aichi Virüsü (AiV): AiV, Picornaviridae familyası Kobuvirus cinsinde yer alan küre biçiminde (yaklaşık 30 nm çapında) zarfsız, tek zincirli pozitif RNA genom virüsüdür. İlk olarak 1989 yılında Japonya'nın Aichi bölgesinde, kontamine çiğ ıstiridye tüketimine bağlı olarak gastro-enterit enfeksiyonu görülen hastalarda tespit edilmiştir. Kontamine yiyecek veya su yoluyla fekal-oral olarak bulaşan insan gastroenterit etkeni olarak tanımlanmıştır (Kitajima ve Gerba, 2015).

AiV enfeksiyonunun inkubasyon süresi 12-36 saattir. Hastalığın klinik belirtileri, gastroenteriti anımsatan ishal, karın ağrısı, bulantı, kusma ve ateşi içerir (Yamashita ve ark., 2001). Serolojik çalışmalar ile insan nüfusunun % 90'ından fazlasının 40 yaşına kadar AiV'ye maruz kalabileceği bildirilmiştir (Reuter ve ark., 2011). Son epidemiyolojik çalışmalar ile virüsün diğer enterik viral etkenlere göre daha yüksek sıklıkta tespit edilebileceği ortaya konulmuştur. İnsan dışkısu ile atılan AiV suları kirlettiğinden dolayı çoğunlukla yüzey sularında, atık sularında, kanalizasyon veya nehir suyunda bulunmaktadır. İnsanlar, yeterli hijyenik arıtma yapılmayan içme suyu ve kontamine yüzey sularında yetiştirilen çiğ kabuklu deniz ürünleri tüketmesinden sonra bu virüslere maruz kalabilirler (Lodder ve ark., 2013). 1987-2007 yılları arasında ortaya çıkan AiV salgınlarının büyük çoğunluğuna kontamine çiğ ıstiridye tüketiminin neden olduğu bildirilmiştir (Rivadulla ve Romalde, 2020).

Sapovirüs (SaV): Caliciviridae familyası Sapovirus cinsinde yer alır. Tek sarmallı RNA'ya sahiptir ve çapı yaklaşık 30-38 nm'dir. Günümüze kadar, GI'den GV'ye kadar beş SaV genogrubu tanımlanmıştır. saVsGI, GII, GIV ve GV genogrupları insanları enfekte ederken, GIII genogrupları da domuzları enfekte etmektedir (D'Souza, 2015). SaV'nin çocuklarda gastroenterite neden olduğu tespit edilmiştir. Ancak yaşlılardaki gastroenterit vakalarında da görülmüştür. Etken genellikle fekal-oral yolla bulaşır. Ayrıca, kontamine içme suyu ve gıda veya kişiden kişiye temas yoluyla da bulaşabilir. SaV enfeksiyonunun inkubasyon süresi 12-48 saattir. Klinik belirtiler arasında genellikle ateş, mide bulantısı, karın kramplarının eşlik ettiği ishal ve kusma ile karakterize tipik viral gastroenterit semptomları yer almaktadır. Hastalığın süresi 2-6 gün arasında değişmektedir. Enfeksiyöz dozunun 1,015-2,800 kopya/ml,g olduğu tahmin edilmektedir (Oka ve ark., 2015).

SaV, kanalizasyonda (işlenmiş ve işlenmemiş), nehir suyunda ve kabuklu deniz hayvanlarında (istiridyeye) tespit edilmiştir (D'Souza, 2015). Kontamine gıda tüketiminin neden olduğu sporadik SaV vakaları bildirilmiştir (Miranda ve Schaffner, 2019).

İnsan Adenovirüsü (HAdV): İnsanları enfekte edebilen Adenoviridae familyası Mastadenovirus cinsinde yer alan zarfsız ve çift sarmallı DNA virüsleridir. HAdV, gastroenterit, solunum yolu hastalığı, hemorajik sistit, hepatit, meningoensefalit ve ekzantem gibi birçok farklı hastalık belirtilerine neden olmaktadır. Çoğunlukla bebeklerde ve bağışıklığı baskılanmış konaklarda ya da solunum veya kalp hastalığı olan hastalarda nadiren ciddi enfeksiyona veya ölüme neden olur (Dashti ve ark., 2016). HAdV günümüz itibarıyla 9 alt gruba ayrılmış (A'dan I'e) ve 90 genotip de tanınmıştır. Küçük çocuklarda akut gastroenterit ile okullar, kreşler ve askeri kamplar gibi topluluklardaki değişik salgınların en yaygın etiyojik ajanlarıdır (% 5-20) (Banerjee ve ark., 2017; Kumthip ve ark., 2019). Genellikle 8-10 gün süren bir inkübasyon sonrası periyodik ishal, düşük dereceli ateş, kusma, karın ağrıları, dehidratasyon ve solunum sistemi komplikasyonları görülmektedir (Dashti ve ark., 2016). İnsanlardaki en yaygın HAdV enfeksiyonu fekal-oral yolla bulaşmaktadır. Gıda, özellikle kontamine deniz ürünleri (kabuklu deniz ürünleri) ve su da bulaşma kaynağıdır (Kumthip ve ark., 2019).

Enterovirüs (EV): Picornaviridae familyası Enterovirus cinsi içerisinde zarfsız ve tek sarmallı RNA virüsleridir. Klinik semptomlara göre; Coxsackie A, Coxsackie B, poliovirüsler ve ekovirüsler olmak üzere dört EV grubu tanımlanmıştır. Etken, her yıl dünya genelinde milyonlarca kişiyi enfekte eder (Chen ve ark., 2020). Herpangina, miyokardit, perikardit, el ayak ve ağız hastalığı (HFMD) ile yenidoğan sepsisi gibi insanlarda çeşitli akut enfeksiyonlara neden oldukları bildirilmiştir (Balada-Llasat ve ark., 2019).

EV'ler çoğunlukla fekal-oral yolla bulaşır iken bazı türler solunum yoluyla yayılabilmektedir. Enfeksiyon dozu düşük, 1-10 enfeksiyöz viral partiküldür. Hastalığın inkübasyon süresi genellikle 2-5 gündür (Tang ve Holmes, 2017). EV ile enfekte olan kişilerin büyük çoğunluğunda (% 90'ın üzerinde) ya hiçbir semptom

görülmez ya da ani ateş gibi spesifik olmayan semptomlar görülebilmektedir. Bununla birlikte, EV enfeksiyonunda hafif solunum semptomları, ateş ve kas ağrıları ile birlikte grip benzeri hastalık, kaşıntılı ateş, gastrointestinal semptomlar gibi çok çeşitli belirtiler ortaya çıkmaktadır. Özellikle insanlarda görülen gıda kaynaklı EV vakaları kanalizasyon ile kirlenmiş başlıca istiridyeler olmak üzere çığ kabuklu deniz hayvanlarının tüketilmesinden ileri gelmektedir (Yeargin ve Gibson, 2018).

Bulaşıcı Kuş Gribi Virüsü (H5N1): Avian influenza kanatlı hayvanların yüksek bulaşma özelliğine sahip bir virüsüdür. Virulense bağlı olarak kanatlılarda yüksek miktarda kayıplara neden olmaktadır. Etken ile kontamine kanatlı eti ve kanının tüketimi, kümes hayvanları ile doğrudan temas sonucu insanlarda enfeksiyona neden olmaktadır. H5N1 kaynaklı bağırsak enfeksiyonu olan hastalarda görülen tek belirtinin ishal olduğu bildirilmiştir (Beigel ve ark., 2005). Hastalardan alınan dışkı örneklerinde hastalık etkeni virüsün tanımlanması insan sindirim sisteminde viral replikasyon olasılığını göstermektedir (Uiprasertkul ve ark., 2005).

Nipah Virüsü (NiV): İnsan ve hayvanlarda ciddi hastalığa neden olan ve son yıllarda ortaya çıkan bir zoonoz etkenidir. Virüsün doğal konağı Pteropodidae familyası Pteropus cinsinde yer alan meyve yarasalarıdır. Etken meyve yarasalarının tükürüğü ile kontamine olmuş meyvelerin tüketilmesi yoluyla bulaşabilir (EFSA, 2011). NiV enfeksiyonu ilk olarak 1998-1999 yıllarında Malezya ve Singapur yarımadasında 276 kişinin etkilendiği büyük bir salgında ortaya çıkmıştır. Hastaların çoğunda öncelikle ensefalit görülmüş ve % 39'unun öldüğü bildirilmiştir.

Malezya'da ticari amaçlı büyük domuz çiftliklerinin gelişmesi ile birlikte çevresinde yetiştirilen meyve ağaçlarındaki meyveleri kısmen yiyen yarasaların NiV etkenini içeren tükürük salgısı ile kontamine meyveleri domuz ahırlarına bırakabilmektedir. Domuzlar, kontamine meyveleri yiyerek NiV ile enfekte olabilir. Hastalık domuz popülasyonu yoğun çiftliklerde enfekte domuzlar tarafından diğerlerine solunum yoluyla bulaşarak yayılmaktadır. Çiftçiler, doğrudan hasta domuzlar ile enfekte olmaktadır. 2005 yılında Bangladeş'te insanlarda görülen Nipah salgınına yarasaların kontamine ettiği NiV etkeni içerikli taze hurma suyu tüketiminin neden olduğu bildirilmiştir (Koopmans, 2012).

Tablo 2. Gıdalardan enterik virüslerin tespit edilmesinde kullanılan mevcut yöntemlerin avantajları ve dezavantajları

Yöntemin Adı	Avantajları	Dezavantajları
ISO/CEN Metod	<ul style="list-style-type: none"> Başlıca virüsler ve gıda matrisleri dahildir. Kontrollerin kullanımı ve sonuçların nasıl yorumlanacağına ayrıntılı açıklaması nedeniyle sonuçlara olan güvenin artması. Uluslararası düzeyde tanınan ISO yöntemi, laboratuvarlarda uyumlu bir yöntemin uygulanmasını artırır. Farklı laboratuvarlardan elde edilen sonuçları karşılaştırma ve değerlendirme olanağı sağlar. Virüs testi için laboratuvarların akreditasyonunu kolaylaştırır. 	<ul style="list-style-type: none"> Yöntemlerin gelişmeleri durdurulabilir. İşlenmiş gıda matrisleri için yöntemler içermez. Kontrol sayısının fazla olması maliyetleri artırır. Ticari kontroller mevcut olmalıdır; Bazı matrislerde düşük düzeyde virüs tespit edilememesine yol açabilir. Enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan partikülleri ayırt edemez. Yöntem karmaşıklığı.
Miktar belirleme ve doğrulama	<ul style="list-style-type: none"> Rutin miktar tayini, gıda matrislerindeki temel virüs seviyeleri hakkında veri sağlar ve kabul edilebilir düzeylerin uygulanması konusunda bilgi verir. RT-qPCR sonuçlarının sekanslama ile sistematik olarak doğrulanması, virüs suşu epidemiyolojisi hakkında bilgi sağlar. 	<ul style="list-style-type: none"> RT-qPCR ile miktar tayini, inhibitörlere karşı duyarlıdır ve düşük virüs seviyeleri için güvenilir bir doğruluğa sahiptir. RT-qPCR pozitif sonuçlarının sekanslama yoluyla doğrulanması, düşük hassasiyet nedeniyle zordur. Miktar belirleme ve doğrulama maliyeti artırır. Zaman almaktadır.
Bozulmamış virüs kapsidlerinden moleküler virüs tespiti	<ul style="list-style-type: none"> Enfektif virüs partiküllerinin sayısının fazla tahmin edilmesini azaltır. 	<ul style="list-style-type: none"> Çeşitli reaktiflerin geliştirilmesi gerekmektedir. Virüs tipine ve matrislere göre protokollerin dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi gerekir. Bulaşıcı ve bulaşıcı olmayan kontroller dahil edilmelidir. Standart PCR yöntemine göre maliyetleri artırır.
Enfektif virüslerin tespiti	<ul style="list-style-type: none"> Bulaşıcı virüslerin tespit edilmesini sağlar. ICC-RT-PCR <ul style="list-style-type: none"> Tek başına hücre kültüründen daha duyarlıdır. Sitopatojenik etki göstermeyen bulaşıcı virüsleri tespit eder. Tek başına hücre kültürüyle karşılaştırıldığında analiz süresini kısaltır. 	<ul style="list-style-type: none"> Yabani tip enterik virüslerin kültüre edilmesi genellikle zordur. NoV'ler için basit şekilde kültüre edilmesini sağlayan sistemin optimize edilmesi gerekir. Kültüre etme, teşhis için gereken maliyeti ve zamanı artırır. ICC-RT-PCR, En Muhtemel Sayı (MPN) testi olarak kullanılmadıkça kantitatif değildir.
Yeni teknolojiler	<ul style="list-style-type: none"> Dijital PCR <ul style="list-style-type: none"> Gıda matrislerindeki inhibitörlere daha az duyarlıdır. Standart eğrilerden bağımsız olarak daha doğru ölçüm sağlar. Yeni nesil sekanslama, ortaya çıkan virüsler ve yeni virüs suşlarını yakalayabilir. 	<ul style="list-style-type: none"> Artan maliyetler ve numune hazırlama. Yeni nesil sekanslama için standart yaklaşımın olmaması.

Kene kaynaklı Ensefalit Virüsü (KKEV): Virüs içerebilecek başka bir hayvansal ürün süttür. Bruselloz, tüberküloz ve listeriyoz gibi birkaç önemli bakteriyel hastalıklar çiğ süt veya süt ürünleri tüketerek bulaştığı iyi bilinmesine rağmen süt ile zoonoz virüs bulaşma hakkında çok az şey bilinmektedir. İnsanda enfeksiyona yol açan keçi sütü yoluyla kene kaynaklı ensefalit virüsünün (KKEV) bulaşması bir istisnadır. Polonya'da KKEV yüksek riskli bir bölgede RT-PCR ile yapılan bir çalışmada, koyun sütünün % 22,2'sinin, keçi sütünün % 20,7'sinin ve inek sütünün % 11,1'inin pozitif olduğu tespit edilmiştir. Zarflı RNA içeren KKEV ve diğer kene kaynaklı flavivirüsler genellikle çevresel etkilere karşı dirençli olarak kabul edilmese de, düşük pH koşullarında midede olduğu gibi, hayatta kalabilmektedir. Bununla birlikte, KKEV'nün yakın bir akrabası olan Langat virüsü peynir üretimi sırasında mevcut koşullardan varlığını sürdürülebilirken, KKEV pastörizasyon ile tamamen inaktive olmaktadır. Özellikle koyun ve keçilerin çiğ sütünden yapılan peynir ve diğer süt ürünleri, bu nedenle potansiyel olarak ölümcül KKEV ve muhtemelen diğer kene kaynaklı flavivirüsler için bir enfeksiyon kaynağı oluşturma ihtimali bulunmaktadır (Bachofen, 2018).

Hantavirüs: Bunyaviridae familyasına ait, tek sarmallı RNA virüs türüdür. Fareler ve diğer bazı kemirgenler hantavirüs taşıyıcısıdır. Özellikle kırsal alanlarda ve şehirlerde insanlar için ciddi bir tehlike oluştururlar. Kemiricilerde kronik asemptomatik bir enfeksiyon tablosu görülmektedir. Viral etkeni taşıyan asemptomatik kemiriciler idrar, dışkı ve sekresyonları ile hem çevre hem de ortam havasını enfekte edebilir. İnsanlara enfeksiyon, dış ortama atılan enfektif virus ile kontamine gıdaların tüketilmesi veya çevreden havaya yayılan toz partiküllerinin solunumuyla alınması yoluyla bulaşmaktadır. Kemirgenin insanı ısırmasıyla virus geçişi çok nadir olarak görülmektedir. Hastalık insandan insana temasta geçmemektedir (Muranyi ve ark., 2005).

GIDA KAYNAKLI VİRAL ETKENLERİN TESPİT EDİLMESİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER
Günümüzde gıda kaynaklı viral etkenlerin tespitinde PCR temelli yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. NoV ve HAV tespitine yönelik olarak geliştirilen bu yöntemler hücre kültürü tabanlı metotlara göre hem daha hassas hem de daha kısa sürede belirlenmesi açısından

önem taşımaktadır. İnsanlarda, hastalık nedeni olan gıda kaynaklı enterik virüslerinin saptanmasında kullanılan mevcut yöntemlerin avantajları ve dezavantajları Tablo 2'de gösterilmiştir (Bosch ve ark., 2018).

ISO/CEN yöntemi: Çift kabuklu yumuşakçalar, yeşil yapraklı sebzeler, meyveler, gıda yüzeyleri ve şişelenmiş sularda gıda kaynaklı viral etkenlerden NoV ve HAV'nin kantitatif ve kalitatif RT-qPCR tespiti ISO standardı ile açıklanmaktadır (ISO, 2017). Standarta göre gıda örneklerinden bir kaotropik reaktif kullanılarak kapsid bozulması ve ardından da RNA'nın silika parçacıklarının adsorpsiyonuna dayalı RNA ekstraksiyon yöntemi protokollerde belirtilmiştir. Gıda maddelerinden viral etkenin tespiti gıdanın fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı zor olmaktadır. Bu nedenle ISO yöntemi, virüs miktarının yanlış negatif yorumlanmasını veya sayısal eksikliği önlemeye yönelik belirli kriterleri içermektedir. Virüs ekstraksiyonunun etkinliğini ölçmek için virüs kontrolü yöntemi ilave edilmiştir.

Bununla birlikte çeşitli gıda maddelerinden virüs elüsyonu ve konsantrasyonundan yüksek geri kazanıma izin veren standardın sadeleştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Meyve yüzeyindeki RNA'nın lizis tamponuna daldırılması ile gerçekleştirilen direkt ekstraksiyon işlemi yapay kontamine meyveler üzerindeki bazı NoV etkenlerinin tespit edilmesinde etkili olmuştur (Perrin ve ark., 2015). Tam doğrulamaya karşı bir sonraki adım, doğal olarak kontamine olmuş numunelerde viral patojenlerin kanıtlanmış tespiti ve laboratuvarlar arasında performans karşılaştırması gerekmektedir. Mevcut ISO yöntemi ile gıda maddelerini analiz ederken en büyük sorun, sınırlı sayıda numunelerde düşük virüs seviyelerini tespit etmenin zor olmasıdır. Bu yöntem iyileştirmeleri veya optimizasyonu engellememelidir.

Miktar Belirleme ve Doğrulama: Gıda ürünlerinden viral etkenlerin sayısal olarak kabul edilebilir düzeylerinin belirlenmesi risk değerlendirmelerine veri sağlayabileceğinden, salgın araştırmaları ve rutin izleme açısından önemlidir (Pintó ve ark., 2009). RT-qPCR yöntemi ile virüs miktarının belirlenmesinde, sentetik ya da in vitro kopyalanmış RNA veya DNA'nın temsil ettiği hedef sekansın bilinen miktarlarının oluşturduğu standart bir eğri kullanılarak yapılabilmektedir (Costafreda ve ark., 2006; Gentry ve ark., 2009; Hata ve ark., 2011).

Kullanılan yöntem hangisi olursa olsun

en kritik adım, ssRNA'nın harici amplifikasyon kontrolündeki ters transkripsiyon (RT) reaksiyonu en uygun olanıdır (Costafreda ve ark., 2006). Ancak, standart malzemelerin özel laboratuvarlar tarafından üretilmesi ve nicelendirilmesi farklılıklara yol açabilir. Bu durum laboratuvarlar arası varyasyona neden olabilmektedir. Söz konusu değişimlerin sertifikalı standart reaktiflerin kullanılması ile azaltılabileceği öne sürülmektedir. Daha da önemlisi, virüsler genellikle bir grup gıda da eşit olmayan bir şekilde dağılım göstermektedir. Kalitatif ve kantitatif olarak en güvenilir sonuçların elde edilmesi için çok sayıda numunenin tekrarlanabilir analizlerinin yapılması gerekmektedir (Le Guyader ve ark., 2010; Müller ve ark., 2015). Günümüzde, virüslerle ilgili olarak uygulanan düzenleyici mikrobiyolojik kriterler (örn. standartlar, kılavuzlar veya şartnameler) bulunmamaktadır. Pek çok gıda şirketi ve yetkilisi, esas olarak üretim hijyen testi veya salgın araştırmalarının bir parçası olarak kalitatif sonuçlar istemektedir (Müller ve ark., 2015). Pozitif bir qRT-PCR sinyalinin doğrulanması ve epidemiyolojik çalışmalara yardımcı olmak için gıda ürünlerinden hastalık salgınlarıyla ilişkili virüslerin belirlenmesi ve sistematik olarak tiplendirilmesi önerilmektedir (EFSA, 2011). Standart RT-qPCR'lerden alınan kısa (~100 bp) ampikon suş tiplendirmesi için uygun olmadığından mevcut protokoller, sekanslama için daha uzun ve değişken bir bölgeyi hedefleyen geleneksel RT-PCR'leri içermektedir (Vinjé ve ark., 2004; Mattison ve ark., 2009). Suşlar, filogeni için kullanılan bölgelere bağlı olarak farklı şekilde toplanacağından sekanslama bölgeleri olarak tercihen potansiyel rekombinasyon alanları içermelidir (Vinjé ve ark., 2004; Symes ve ark., 2007; Mattison ve ark., 2009; Siebenga ve ark., 2009). Ancak, salgın araştırmalarında defalarca bildirildiği gibi gıda örneklerinden faydalı bir pozitif RT-qPCR sekansı elde etmek zordur (Sarvikivi ve ark., 2012). Bunun nedeni, geleneksel primerler tarafından tanıma eksikliği, birden fazla suşun eş zamanlı olarak amplifikasyonu, geleneksel RT-PCR için virüs miktarının tespit limitinin altında olması veya sekanslama için uygun amplifikasyon elde etmede yetersiz saf RNA'nın ekstraksiyonu olabilir. Belçika, Fransa ve Kanada da yapılan tarama çalışmalarında RT-PCR yöntemiyle pozitif örneklerin sadece % 34,6'sı sistematik tiplendirilme ve sekanslama ile doğrulanmıştır (Baert ve ark., 2011).

Bozulmamış Virüs Kapsidlerinden Moleküler Virüs Tespiti: RT-qPCR yöntemi ile tespit edilen viral

genomlar, bulaşıcı parçacıkları temsil etmemektedir. Moleküler yöntemler ile virüslerin enfektivitesinin daha iyi analiz edilmesinde saflaştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Virüsler enfektif olması için sağlam bir kapside ihtiyacı duymaktadır. Bu nedenle, RNA'nın yalnızca bu bozulmamış viral partiküllerden saptanmasını gerçekleştirmek için çalışmalar yapılmıştır. Termal inaktivasyona maruz kalan HAV'da kanıtlandığı gibi RNase veya propidium monoazid tedavileri başarılı olarak kullanılabilir (Sanchez ve ark., 2012). Ancak bu tür yaklaşımların viral etkene ve uygulanan tedaviye göre adapte olması gerekmektedir. Ayrıca, inaktif işaretli virüslerin baskılanması tam olmayabilir. Bu durum ise enfektif virüsün olduğundan daha fazla bulunduğunun tahmin edilmesine yol açabilir (Moreno ve ark., 2015). Yöntemler, propidium monoazid ve RNase'nin hasarlı veya yıkılanmış bölgelere nüfuz etme yeteneğine dayandığından virüsler kapsid bütünlüğünü azaltmayan ya da ortadan kaldırmayan işlemlerle enfektif hale getirilir.

Bazı NoV suşlarının elde edilmesinde nükleik asit aptamerleri önerilmiştir. ssDNA aptamerleri, antikorlara alternatif olarak kullanılabilir (Escudero-Abarca ve ark., 2014; Moore ve ark., 2015). Aptamerler, tasarımlarına göre oldukça spesifik olabilir. Bu nedenle, farklı viral suşlarının tanımlanmasında farklı aptamerleri içeren geniş panelden faydalanılmaktadır. Ayrıca tüm viral partiküllerin varlığının belirlenmesinde üç boyutlu kapsid yapısının tespit edilmesi yetenekleri kullanılabilir (Hagström ve ark., 2015). NoV'nin histo-kan grubu antijen glikanlarına bağlanması esas alınarak kapsid bütünlüğünün değerlendirilmesinde rol olabileceği önerilmiştir. NoV'nin; klor, ısı veya ultraviyole (UV) radyasyonu ile muamele edilmesinden sonra glikanlara seçici bağlanması, genom titrelerinde üç log₁₀ düzeyinde azalma göstermiştir. Bu durum glikanların spesifik olarak hasara uğramamış kapsidi hedefleme kapasitesini kanıtlamıştır (Dancho ve ark., 2012).

Enfektif Virüslerin Tespiti: Bazı enterik viral etkenlerini tespit etmek için hücre kültürü temeline dayalı yöntemler kullanılabilir. Virüs enfektivitesinin azalmasını önlemek için gıda maddelerinden virüsün ayrıştırılması için bir dizi konsantrasyon ve saflaştırma işlemlerinden yararlanılmaktadır. Bu tür yöntemlerin, çevre ve gıda örneklerinden bazı enterovirüslerin veya HAV suşlarının tespit edilmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (Pinto ve ark., 2009).

RT-qPCR veya qPCR teknikleri ile virüs tipini tespit etmeden önce virüsün nükleik asitlerini amplifiye etmek ve inhibitörleri uzaklaştırmak için hücre kültürü temeline dayalı yöntemler kullanılmıştır. Bu entegre hücre kültürü (ICC) (RT)- qPCR/qPCR testi, infektif virüs partiküllerinin saptama süresini kısalttığından dolayı adenovirüsleri, astrovirüsleri, enterovirüsleri ve HAV'ın tespit edilmesinde faydalanılmaktadır (Chung ve ark., 1996; De Medici ve ark., 2001; Choo ve Kim, 2006). Yöntem, kabuklu deniz ürünleri örneklerinde bulunan infektif virüslerin analizine ve hücre kültüründe sitopatik değişikliklere neden olmayabilecek virüslerin (örn., HAV) saptanmasına imkan tanımaktadır (Crocchi ve ark., 2005).

Yeni Teknolojiler: Son teknik gelişmeler, gıda maddelerinden viral etkenlerin tespiti ve miktarının belirlenmesi ile tanımlanmasına yönelik iyileştirmelere imkan tanımaktadır. Dijital PCR tarafından sağlanan miktar belirtmesine yönelik teknik iyileştirmelerinin yanı sıra PCR temelli teknolojilerin doğruluğu, enzimlerin geliştirilmesi, prob etiketlemesi ve viral genom sekansların bilgisi ile arttırılabilmektedir (Sedlak ve Jerome, 2013; Kishida ve ark., 2014). Yeni nesil dizilemenin viral genomlara uygulanması, yalnızca viral etkenleri tanımlamaya katkıda bulunmakla kalmayarak aynı zamanda hedeflenen PCR deneyleri için primer ve prob tasarımını geliştirecek yeni veriler de sağlayacaktır. Gelecek zamanda, klinik ve çevresel numunelerde viromun tanımlanması, gıda numunelerinin analizinde ve ayrıca bakteriyel ve viral kontaminasyon arasındaki herhangi bir ilişki bakımından bilgilerin geliştirilmesine de yardımcı olacaktır (Kohl ve ark., 2015).

GIDA KAYNAKLI VİRAL ETKENLERİN ÖNLENMESİ VE KONTROLÜ

Antibiyotikler viral etkenlere karşı etkili değildir. Bu nedenle gıda kaynaklı viral hastalıkların önlenmesine yönelik alınacak tedbirler şunları içermelidir (WHO, 2008; Koopmans, 2012):

- İyi hijyen uygulamaları konusunda eğitim ve farkındalık (Örneğin; el yıkama, meyve ve sebzelerin uygun şekilde yıkanması ve kullanılması, yiyeceklerin elverişli koşullarda buzdolabında saklanması, etinin iyice pişirilmesi). Özellikle hastanelerde hasta veya bağışıklığı yetersiz insanlar için yiyeceklerin hazırlandığı durumlarda önemlidir.

- Hastalığa yakalanan çalışanlar yemek servisi

işlerinde çalıştırılmamalıdır.

- Özellikle yemeye hazır bitkilerin sulanması için temiz su kullanılmalıdır.
- Tarımsal üretimde kontamine hayvan gübresi kullanımı önlenmelidir.
- Deniz suyunun, kanalizasyon ile kirlenmesi önlenerek temiz kabuklu deniz hayvanlarının yetiştirilmesi sağlanmalıdır.

Gıda maddelerine uygulanan soğutma ve dondurma işlemleri gıda kaynaklı viral etkenlere karşı korunma ile kontrolde yeterli düzeyde etkili olmayabilir. Virüslere uygulanan ısı işlemlerinin etkinliği; virüsün tipine, gıda maddesine ve viral etkenin başlangıç düzeyine göre değişiklik gösterebilmektedir. Gıdaların pişirilmesinde, sıcaklık değeri 90 °C olmalı ve bu ısı derecesinde en az 90 sn süre uygulanmalıdır. Viral etkenlerin, ellerdeki miktarının azaltılmasında en az 20 sn süre ile akan temiz su ve sabunla yıkanması mütakibinde % 70'lik alkol kullanımıyla el dezenfeksiyonu gıdalarda virüs kontaminasyonunun azaltılmasında etkili olmaktadır (Boxman, 2013).

Son yıllarda virüslerin kontrolünde hayvansal kökenli gıdalar da dahil olmak üzere gıdaların kalitesi ve güvenliğini arttırmak amacıyla kullanılan yüksek basınçlı işleme (HPP), soğuk plazma (CP), ultraviyole ışık (UV), ışınlama ve darbeleri elektrik alanı (PEF) gibi termal olmayan teknolojik gıda işleme yöntemleri önem kazanmaktadır (Bosch ve ark., 2018).

SONUÇ

Son yıllarda çevresel koşullara yüksek dirençlilik gösteren gıda kaynaklı viral etkenler sağlığımızı tehdit etmektedir. NoV, HAV, HEV, HRV, HAstV, SaV, AiV HAstV gıda kaynaklı hastalıklarla ilişkilidir. Pek çok gıda kaynaklı viral salgına NoV neden olmaktadır. Bununla birlikte, bulaşıcı H5N1 kuş gribi virüsünün kontamine kanatlı eti ve atıkları ile, NiV ise doğrudan yarasaların kontamine ettiği meyve ve palmye ağacı özsuunun tüketimi neticesinde bulaştığı belirlenmiştir.

Gıda kaynaklı virüsler; başlıca fekal-oral yolla ve gıdalar vasıtasıyla yayılmakta, gastroenterit ve ishal gibi birçok hastalığa yol açmaktadır. Hem morbidite hem de mortalite bakımından önemlidir. Gıda kaynaklı viral etkenler gıdalarda çoğalmasalar da gıdaların yüzeylerinde uzun süre kalabilirler. Günümüzde bu tür virüslerin tespiti için standart, ucuz, kolay uygulanabilir yeni metodların

geliştirilmesi ile tüketicilerin daha kaliteli ve güvenilir gıda ürünlerini temin etmesine katkı sağlanmalıdır.

Viral hastalıkların bulaşmasını en aza indirmek için yüzey sularını, kanalizasyon giderlerinin, hayvan atıklarının su kaynaklarını kontamine etmesi engellenmeli, özellikle sebze-meyve yetiştirilen bölgelerde sulama sularına dikkat edilmelidir. Gıdaların üretimi ve işlenmesinde; iyi kişisel ve gıda hijyeni uygulaması, iyi tarım uygulamaları ve hasat sonrası kontroller etkili bir şekilde gerçekleştirilmelidir. Gıda kaynaklı riskler dikkate alındığında viral etkenlerin bulaşmasına ilişkin olarak gıda zincirinin tüm aşamalarındaki önleyici faaliyetlerde viral etkenler göz önüne alınmalıdır.

KAYNAKLAR

- Bachofen, C. (2018). Selected Viruses Detected on and in our Food. *Curr Clin Microbiol Rep*, 5 (2), 143-153.
- Baert, L., Mattison, K., Loisy-Hamon, F., Harlow, J., Martyres, A., Lebeau, B., Stals, A., Van Coillie, E., Herman, L. & Uyttendaele, M. (2011). Review: Norovirus prevalence in Belgian, Canadian and French fresh produce: A threat to human health? *Int J Food Microbiol*, 151 (3), 261-269.
- Balada-Llasat, J. M., Rosenthal, N., Hasbun, R., Zimmer, L., Bozzette, S., Duff, S., Chung, J. & Ginocchio, C. C. (2019). Cost of managing meningitis and encephalitis among infants and children in the United States. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 93 (4), 349-354.
- Banerjee, A., De, P., Manna, B. & Chawla-Sarkar, M. (2017). Molecular characterization of enteric adenovirus genotypes 40 and 41 identified in children with acute gastroenteritis in Kolkata, India during 2013–2014. *J Med Virol*, 89 (4), 606-614.
- Beigel, J. H., Farrar, J., Han, A. M., Hayden, F. G., Hyer, R., De Jong, M., Lochindarat, S., Nguyen, T. K. T., Nguyen, T. H., Tran, T. H., Nicoll, A., Touch, S. & Yuen, K. Y. (2005). Avian influenza A (H5N1) infection in humans. *N Engl J Med*, 353 (13), 1374-1385.
- Bosch, A., Pinto, R. M. & Guix, S. (2016). Foodborne viruses. *Curr Opin Food Sci*, 2016, 8, 110-119.
- Bosch, A., Gkogka, E., Le Guyader, F. S., Loisy-Hamon, F., Lee, A., van Lieshout, L., Marthi, B., Myrmel, M., Sansom, A., Schultz, A. C., Winkler, A., Zuber, S. & Phister, T. (2018). Foodborne viruses: Detection, risk assessment, and control options in food processing. *Int J Food Microbiol*, 285, 110-128.
- Boxman, L. A. (2013). Viral contamination by food handlers and recommended procedural controls. In, Cook N, Ed. *Viruses in food and water: risks, surveillance and control*. Cambridge, United Kingdom: Woodhead Publishing Ltd; 2013. pp. 217-232.
- Burbelo, P. D., Ching, K. H., Esper, F., Iadarola, M. J., Delwart, E., Lipkin, W. I. & Kapoor, A. (2011). Serological studies confirm the novel astrovirus HMOAstV-C as a highly prevalent human infectious agent. *PLoS ONE*, 6 (8), e22576.
- CDC (2013). West Nile virus and other arboviral diseases—United States, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 62 (25), 513-517.
- Chen, B. S., Lee, H. C., Lee, K. M., Gong, Y. N. & Shih, S. R. (2020). Enterovirus and Encephalitis. *Front Microbiol*, 11 (261), 1-15.
- Choo, Y. J & Kim, S. J (2006). Detection of human adenoviruses and enteroviruses in Korean oysters using cell culture, integrated cell culture-PCR, and direct PCR. *J Microbiol*, 44 (2), 162-170.
- Chung, H., Jaykus, L. A. & Sobsey, M. D. (1996). Detection of human enteric viruses in oysters by in vivo and in vitro amplification of nucleic acids. *Appl Environ Microbiol*, 62 (10), 3772-3778.
- Costafreda, M. I., Bosch, A. & Pintó, R. M. (2006). Development, evaluation, and standardization of a Real-Time TaqMan Reverse Transcription-PCR assay for quantification of hepatitis A virus in clinical and shellfish samples. *Appl Environ Microbiol*, 72 (6), 3846-3855.
- Croci, L., De Medici, D., Di Pasquale, S. & Toti, L. (2005). Resistance of hepatitis A virus in mussels subjected to different domestic cookings. *Int J Food Microbiol*, 105 (2), 139-144.
- D'Souza, D. H. (2015) 5-Update on foodborne viruses: Types, concentration and sampling methods. In, Sofos J, Ed. *Advances in Microbial Food Safety*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition; 2015. Vol 2, pp. 102-116.
- Dancho, B. A., Chen, H. & Kingsley, D. H. (2012). Discrimination between infectious and non-infectious human norovirus using porcine gastric mucin. *Int J Food Microbiol*, 155 (3), 222-226.
- Dashti, A. S., Ghahremani, P., Hashempoor, T. & Karimi, A. (2016). Molecular epidemiology of enteric adenovirus gastroenteritis in under five-year-old children in Iran. *Gastroenterol Res Pract*, 2016, 2045697.
- De Medici, D., Croci, L., Di Pasquale, S., Fiore, A. & Toti, L. (2001). Detecting the presence of infectious hepatitis A virus in molluscs positive to RT-nested-PCR. *Lett Appl Microbiol*, 33 (5), 362-366.
- Di Bartolo, I., Diez-Valcarce, M., Vasickova, P., Kralik, P., Hernandez, M., Angeloni, G., Ostanello, F., Bouwknecht, M., Rodriguez-Lazaro, D., Pavlik, I. & Ruggeri, F. M. (2012). Hepatitis E virus in pork production chain in Czech Republic, Italy, and Spain,

2010. *Emerg Infect Dis*, 18 (8), 1282-1289.
- EFSA (2011). Scientific opinion on an update on the present knowledge on the occurrence and control of foodborne viruses. *EFSA J*, 9 (7), 2190, pp. 96.
- EFSA (2015). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Foodborne Outbreaks in 2013. *EFSA J*, 13 (1), 3991, pp. 165.
- EFSA (2019). The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. *EFSA J*, 17 (12), 5926, pp. 276.
- Escudero-Abarca, B.I., Suh, S. H., Moore, M. D., Dwivedi, H. P. & Jaykus, L. A. (2014). Selection, characterization and application of nucleic acid aptamers for the capture and detection of Human Norovirus strains. *PLoS One*, 9 (9), e106805.
- Esona, M. D. & Gautam, R. (2015). Rotavirus. *Clin Lab Med*, 35 (2), 363-391.
- Gao, S., Li, D., Zha, E., Zhou, T., Wang, S. & Yue, X. (2015). Surveillance of hepatitis E virus contamination in shellfish in China. *Int J Environ Res Public Health*, 12 (2), 2026-2036.
- Gentry, J., Vinjé, J., Guadagnoli, D. & Lipp, E. K. (2009). Norovirus distribution within an estuarine environment. *Appl Environ Microbiol*, 75 (17), 5474-5480.
- Hagström, A. E. V., Garvey, G., Paterson, A. S., Dhamane, S., Adhikari, M., Estes, M. K., Strych, U., Kourentzi, K., Atmar, R. L. & Willson, R. C. (2015). Sensitive detection of Norovirus using phage nanoparticle reporters in lateral-flow assay. *PLoS One*, 10 (5), e0126571.
- Hata, A., Katayama, H., Kitajima, M., Visvanathan, C., Nol, C. & Furumai, H. (2011). Validation of internal controls for extraction and amplification of nucleic acids from enteric viruses in water samples. *Appl Environ Microbiol*, 77 (13), 4336-4343.
- ISO (2017). Microbiology of the food chain-Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus in using real-time RT-PCR. Part 1: Method for quantification, ISO/TS 15216-1.
- Iturriza-Gomara, M. & O'Brien, S. J. (2016). Foodborne viral infections. *Curr Opin Infect Dis*, 29 (5), 495-501.
- Jones, K. E., Patel, N. G., Levy, M. A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J. L. & Daszak, P. (2008). Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 451 (7181), 990-993.
- Kishida, N., Noda, N., Haramoto, E., Kawaharasaki, M., Akiba, M. & Sekiguchi, Y. (2014). Quantitative detection of human enteric adenoviruses in river water by microfluidic digital polymerase chain reaction. *Water Sci Technol*, 70 (3), 555-560.
- Kitajima, M. & Gerba, C. P. (2015). Aichi virus 1: Environmental occurrence and behavior. *Pathogens*, 4 (2), 256-268.
- Kohl, C., Brinkmann, A., Dabrowski, P. W., Radonić, A., Nitsche, A. & Kurth, A. (2015). Protocol for metagenomic virus detection in clinical specimens. *Emerg Infect Dis*, 21 (1), 48-57.
- Koopmans, M. (2012). Food-Borne Viruses From A Global Perspective. In: Choffnes ER, Relman DA, Olsen LA, Hutton R, Mack A. Editors. *Improving Food Safety Through a One Health Approach: Workshop Summary*. Institute of Medicine, Washington DC: The National Academies Press; pp. 225-251.
- Koopmans, M. & Brown, D. (1999). Seasonality and diversity of Group A rotaviruses in Europe. *Acta Paediatr Suppl*, 88 (426), 14-19.
- Koopmans, M. & Duizer, E. (2004). Foodborne viruses: an emerging problem. *Int J Food Microbiol*, 90 (1), 23-41.
- Kumthip, K., Khamrin, P., Ushijima, H. & Maneekarn, N. (2019). Enteric and non-enteric adenoviruses associated with acute gastroenteritis in pediatric patients in Thailand, 2011 to 2017. *PLoS ONE*, 14 (8), e0220263.
- Le Guyader, F. S., Krol, J., Ambert-Balay, K., Ruvoen-Clouet, N., Desaubliaux, B., Parnaudeau, S., Le Saux, J. C., Ponge, A., Pothier, P., Atmar, R. L. & Le Pendu, J. (2010). Comprehensive analysis of a Norovirus-associated gastroenteritis outbreak, from the environment to the consumer. *J Clin Microbiol*, 48 (3), 915-920.
- Lee, H. M., Kwon, J., Choi, J. S., Lee, K. H., Yang, S., Ko, S. M., Chung, J. K., Cho, S.Y. & Kim, D. (2013). Rapid detection of Norovirus from fresh lettuce using Immunomagnetic Separation and a Quantum Dots Assay. *J Food Prot*, 76 (4), 707-711.
- Lodder, W. J., Rutjes, S. A., Takumi, K. & de Roda Husman, A. M. (2013). Aichi virus in sewage and surface water, the Netherlands. *Emerg Infect Dis*, 19 (8), 1222-1230.
- Luby, S. P., Rahman, M., Hossain, M. J., Blum, L. S., Husain, M. M., Gurley, E., Khan, R. Ahmed, B. N., Rahman, S., Nahar, N., Kenah, E., Comer, J. A. & Ksiazek, T. G. (2006). Foodborne transmission of Nipah virus, Bangladesh. *Emerg Infect Dis*, 12 (12), 1888-1894.
- Mann, T. Z., Haddad, L. B., Williams, T. R., Hills, S. L., Read, J. S., Dee, D. L., Dziuban, E. J., Pérez-Padilla, J., Jamieson, D. J., Honein, M. A. & Shapiro-Mendoza, C. K. (2018). Breast milk transmission of flaviviruses in the context of Zika Virus: A Systematic Review. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 32 (4), 358-368.
- Marsh, Z., Shah, M. P., Wikswo, M. E., Barclay, L., Kisselburgh, H., Kambhampati, A., Cannon, J. L., Parashar, U. D., Vinjé, J. & Hall, A. J. (2018). Epidemiology of foodborne Norovirus outbreaks—United States, 2009–

2015. *Food Saf*, 6 (2), 58-66.
- Mattison, K., Grudeski, E., Auk, B., Charest, H., Drews, S. J., Fritzing, A., Gregoricus, N., Hayward, S., Houde, A., Lee, B. E., Pang, X. L., Wong, J., Booth, T. F. & Vinje, J. (2009). Multicenter comparison of two Norovirus ORF2-based genotyping protocols. *J Clin Microbiol*, 47 (12), 3927-3932.
- Miranda, R. C. & Schaffner, D. W. (2019). Virus risk in the food supply chain. *Curr Opin Food Sci*, 30, 43-48.
- Moore, D. M., Escudero-Abarca, B. I., Suh, S. H. & Jaykus, L. A. (2015). Generation and characterization of nucleic acid aptamers targeting the capsid P domain of a human norovirus GII.4 strain. *J Biotechnol*, 209, 41-49.
- Moreno, L., Aznar, R. & Sánchez, G. (2015). Application of viability PCR to discriminate the infectivity of hepatitis A virus in food samples. *Int J Food Microbiol*, 201, 1-6.
- Muranyi, W., Bahr, Udo., Zeier, M. & van der Woude, F. J. (2005). Hantavirus Infection. *J Am Soc Nephrol*, 16, 3669-3679.
- Müller, L., Schultz, A. C., Fonager, J., Jensen, T., Lisby, M., Hindsdal, K., Krusell, L., Eshøj, A., Møller, L. T., Porsbo, L. J., Böttiger, B. E., Kuhn, K., Engberg, J. & Ethelberg, S. (2015). Separate norovirus outbreaks linked to one source of imported frozen raspberries by molecular analysis, Denmark, 2010–2011. *Epidemiol Infect*, 143 (11), 2299-2307.
- Neethirajan, S., Ahmed, S. R., Chand, R., Buozis, J. & Nagy, É. (2017). Recent advances in biosensor development for foodborne virus detection. *Nanotheranostics*, 1 (3), 272-295.
- Newell, D. G., Koopmans, M., Verhoef, L., Duizer, E., Aidara-Kane, A., Sprong, H., Opsteegh, M., Langelaar, M., Threlfall, J., Scheutz, F., van der Giessen, J. & Kruse, H. (2010). Food-borne diseases the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge *Int J Food Microbiol*, 139, 3-15.
- Oka, T., Wang, Q., Katayama, K. & Saif, L. J. (2015). Comprehensive review of Human Sapoviruses. *Clin Microbiol Rev*, 28 (1), 32-53.
- Perrin, A., Loutreul, J., Boudaud, N., Bertrand, I. & Gantzer, C. (2015). Rapid, simple and efficient method for detection of viral genomes on raspberries. *J Virol Methods*, 224, 95-101.
- Pexara, A. & Govaris, A. (2020). Foodborne Viruses and Innovative Non-Thermal Food-Processing Technologies. *Foods*, 9 (11), 1520.
- Pintó, R. M., Costafreda, M. I. & Bosch, A. (2009). Risk assessment in shellfish-borne out-breaks of hepatitis A. *Appl Environ Microbiol*, 75 (23), 7350-7355.
- Purdy, M. A., Harrison, T. J., Jameel, S., Meng, X. J., Okamoto, H., Van der Poel W. H. M. & Smith, D. S. (2017). ICTV virus taxonomy profile: Hepeviridae. *J Gen Virol*, 98, 2645-2646.
- Razafimahefa, R. M., Ludwig-Begall, L. F. & Thiry, E. (2020). Cockles and mussels, alive, alive, oh* The role of bivalve molluscs as transmission vehicles for Human Norovirus infections. *Transbound. Emerg Dis*, 67 (S2), 9-25.
- Reuter, G., Boros, A. & Pankovics, P. (2011). Kobuviruses- a comprehensive review. *Rev Med Virol*, 21 (1), 32-41.
- Rivadulla, E. & Romalde, J. L. (2020). A comprehensive review on Human Aichi virus. *Virol Sin*, 35 (5), 501-516.
- Robilotti, E., Deresinski, S. & Pinsky, B. A. (2015). Norovirus. *Clin Microbiol Rev*, 28 (1), 134-164.
- Rzezutka, A. & Cook, N. (2004). Survival of human enteric viruses in the environment and food. *FEMS Microbiology Rev*, 28 (4), 441-453.
- Sanchez, G. (2015). Processing strategies to inactivate hepatitis A virus in food products: a critical review. *Compr Rev Food Sci and Food Saf*, 14 (6), 771-784.
- Sanchez, G. & Bosch, A. (2016). Survival of Enteric viruses in the environment and food. In, Goyal SM, Cannon JL. Editors. *Viruses in Foods, Food Microbiology and Food Safety*. Switzerland: Springer International Publishing; pp. 367-392.
- Sanchez, G., Elizaquível, P. & Aznar, R. (2012). Discrimination of infectious hepatitis A viruses by propidium monoazide real-time RT-PCR. *Food Environ Virol*, 4 (1), 21-25.
- Sanchez-Vega, R., Elez-Martínez, P. & Martín-Belloso, O. (2014). Influence of high intensity pulsed electric field processing parameters on antioxidant compounds of broccoli juice. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 29, 70-77.
- Sarvikivi, E., Roivainen, M., Maunula, L., Niskanen, T., Korhonen, T., Lappalainen, M. & Kuusi, M. (2012). Multiple norovirus outbreaks linked to imported frozen raspberries. *Epidemiol Infect*, 140 (2), 260-267.
- Sedlak, R. H. & Jerome, K. R. (2013). Viral diagnostics in the era of digital PCR. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 75 (1), 1-4.
- Shah, M. P. & Hall, A. J. (2018). Norovirus illnesses in children and adolescents. *Infect Dis Clin North Am*, 32 (1), 103-118.
- Siebenga, J. J., Vennema, H., Zheng, D. P., Vinjé, J., Lee, B. E., Pang, X. L., Ho, E. C. M., Lim, W., Choudekar, A., Broor, S., Halperin, T., Rasool, N. B. G., Hewitt, J., Greening, G. E., Jin, M., Duan, Z. J., Lucero, Y., O’Ryan, M., Hoehne, M., Schreier, E., Ratcliff, R. M., White, P. A., Iritani, N., Reuter, G. & Koopmans, M. (2009). Norovirus illness is a global problem:

- Emergence and spread of Norovirus GII. 4 variants, 2001–2007. *J Infect Dis*, 200 (5), 802-812.
- Silva, M. M. O., Tauro, L. B., Kikuti, M., Anjos, R. O., Santos, V. C., Gonçalves, T. S. F., Paploski, I. A. D., Moreira, P. S. S., Nascimento, L. C. J., Campos, G. S., Ko, A. I., Weaver, S. C., Reis, M. G., Kitron, U. & Ribeiro, G. S. (2018). Concomitant Transmission of Dengue, Chikungunya, and Zika Viruses in Brazil: Clinical and Epidemiological Findings From Surveillance for Acute Febrile Illness. *Clin Infect Dis*, 69 (8), 1353-1359.
- Sun, Y., Laird, D. T. & Shieh, Y. C. (2012). Temperature dependent survival of hepatitis A virus during storage of contaminated onions. *Appl Environ Microbiol*, 78 (14), 4976-4983.
- Symes, S. J., Gunesekere, I. C., Marshall, J. A. & Wright, P. J. (2007). Norovirus mixed infection in an oyster-associated outbreak: an opportunity for recombination. *Arch Virol*, 152 (6), 1075-1086.
- Tang, J. W. & Holmes, C. W. (2017). Acute and chronic disease caused by enteroviruses. *Virulence*, 8 (7), 1062-1065.
- Todd, E. C. D. & Greig, J. D. (2015). Viruses of foodborne origin: A review. *Virus Adapt Treat*, 7, 25-45.
- Trostle, J. A., Hubbard, A., Scott, J., Cevallos, W., Bates, S. J. & Eisenberg, J. N. S. (2008). Raising the level of analysis of food-borne outbreaks: Food-sharing networks in rural coastal Ecuador. *Epidemiology*, 19 (3), 384-390.
- Uiprasertkul, M., Puthavathana, P., Sangsiriwut, K., Pooruk, P., Srisook, K., Peiris, M., Nicholls, J. M., Chokeyphaibulkit, K., Vanprapar, N. & Auewarakul, P. (2005). Influenza A H5N1 replication sites in humans. *Emerg Infect Dis*, 11 (7), 1036-1041.
- Vinje', J. (2015). Advances in laboratory methods for detection and typing of Norovirus. *J Clin Microbiol*, 53 (2), 373-381.
- Vinje', J., Hamidjaja, R. A. & Sobsey, M. D. (2004). Development and application of a capsid VP1 (region D) based reverse transcription PCR assay for genotyping of genogroup I and II noroviruses. *J Virol Methods*, 116 (2), 109-117.
- Webb, G. W. & Dalton, H. R. (2019). Hepatitis E: an underestimated emerging threat. *Ther Adv Infect Dis*, 6, 1-18.
- WHO (2008). Viruses in food: Scientific advice to support risk management. <https://www.fao.org/3/i0451e/i0451E.pdf>.
- Yamashita, T., Ito, M., Tsuzuki, H. & Sakae, K. (2001). Identification of Aichi virus infection by measurement of immunoglobulin responses in an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J Clin Microbiol*, 39 (11), 4178-4180.
- Yeargin, T. & Gibson, K. E. (2018). Key characteristics of foods with an elevated risk for viral enteropathogen contamination. *J Appl Microbiol*, 2018, 126 (4), 996-1010.



Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni

Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association

e-ISSN: 2667-8381

Halil ERGÜN^{1,2a}
Levent ALTINTAŞ^{3b}

¹Tarım ve Orman Bakanlığı, Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü, Toksikoloji Laboratuvarı, Ankara

²Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara

³Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji A.D., Ankara

ORCID^a: 0000-0001-6460-3255

ORCID^b: 0000-0002-5148-723X

*Sorumlu Yazar: Halil ERGÜN

E-Posta: hergun84@msn.com

Geliş Tarihi: 18.02.2022

Kabul Tarihi: 14.04.2022

13 (1): 26-46, 2022

DOI: 10.38137/vftd.1075708

PESTİSİTLERİN ARI YETİŞTİRİCİLİĞİNE ETKİSİ

ÖZET. Bal arısı ekonomik bakımdan önemli bir canlıdır. Bal arıları bitkiler de sağladığı tozlaşma ile tarımsal üretimin, verim ve kalitesinin, artmasında önemli rol oynar. Hem çevresel koşulların hem de ekosistemin sağlığı hakkında biyolojik indikatör olarak hareket ederler. Ancak, son yıllarda dünyada ve ülkemizde bal arısı kovanlarında ölümler dikkat çeker. Bal arısı sağlığını etkileyen ana faktörlerden birisi pestisitlerdir. Bal arıları tarımda uygulanan birçok pestisite maruz kalır. Arılar; pestisitlere duyarlı oldukları için, bu maddelerden oldukça fazla etkilenirler. Bu derlemede; arılarda zehirlenmeye neden olan pestisit grupları ve dünyada görülen pestisit kaynaklı arı zehirlenmelerine kısaca değinilmeye çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Arı, Pestisit, Zehirlilik, Zehirlenme.

THE EFFECT OF PESTICIDES ON BEEKEEPING

ABSTRACT. The honeybee is an economically important creature. Honeybees play an important role in increasing agricultural production, yield and quality with the pollination they provide in plants. They act as biological indicators of the health of both environmental conditions and ecosystems. However, deaths in honeybee hives have attracted attention in the world and in our country in recent years. One of the main factors affecting honeybee health is pesticides. Honey bees are exposed to many pesticides applied in agriculture. Bees; as they are sensitive to pesticides, they are highly affected by these substances. In this review, Pesticide groups that cause poisoning in bees and pesticide-induced bee poisoning seen in the world have been tried to be briefly mentioned.

Keywords: Bee, Pesticide, Toxicity, Poisoning.

Makale atfı

Ergün, H ve Altıntaş L (2022). Pestisitlerin Arı Yetiştiriciliğine Etkisi, Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni, 13 (1), 26-46. DOI: 10.38137/vftd.1075708

GİRİŞ

Arılar, gerek insan sağlığı ve beslenmesi yönünden son derece değerli ürünleri üretmesi ve toplaması gerekse doğal ve tarımı yapılan bitkilerde sağladığı tozlaşma hizmetleri ile doğal denge ve tarımsal üretimde hayati öneme sahiptirler. Özellikle dünyadaki gıda ürünlerinin %75'ine yakınının tozlaşmaya bağlı olarak üretildiği de düşünüldüğünde; arıların önemi daha da anlaşılacaktır. Bu sebeple, bal arıları; hem yukarıda belirtilen değerli ürünleri üretmeleri hem de bitkisel üretimde ürün miktarı ve kalitesinin artırılması amaçlarıyla, dünya genelinde yaygın bir şekilde kullanılırlar (TKDK, 2016). Tüm bu olumlu etkilerinin yanı sıra bal arıları, çevresel kirliliğin tespitinde biyolojik indikatör olarak da önemli rol oynarlar. Bu canlılar, biyoindikatör olarak çevresel kirliliği; yaşam fonksiyonlarını değiştirerek, toksinleri vücutlarında biriktirerek veya ürünlerine yansıtarak gösterirler (Yarsan, 2019).

Pestisit terimi, pest ismi verilen canlılara karşı kullanılan maddeleri tanımlayan genel bir terimdir ve arılar da bu maddelere oldukça duyarlıdır. Birçok pestisit grubu arılarda zehirlenmeye neden olur ve bunların zehirlilikleri de arılarda farklılık gösterir (Kaya, 2014; Vernich ve ark., 2019).

ARI YETİŞTİRİCİLİĞİ

Arıcılık, geçmişi oldukça eskilere kadar dayanan, günümüzde bilim ve teknolojinin de gelişmesine bağlı olarak tek başına tarımsal bir faaliyet olarak da kabul edilen ve belli hedefler kapsamında “bal arılarını kullanabilme ve yönetebilme sanatı” olarak tanımlanır (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2019c). Arılardan elde edilen başta bal olmak üzere; bal mumu, arı sütü, propolis, arı zehiri gibi ürünlerin insan sağlığı açısından önemini anlaşılmasıyla, arıcılık, dünya ülkelerinde hızlı bir gelişim göstermiş ve günümüzde de dünyada en yaygın bilinen sektörlerden biri haline gelmiştir. Bugün için arıcılık sektörü; kimya endüstrisinden, gıda endüstrisine; sağlıktan, kozmetik endüstrisine kadar oldukça geniş alanlara uzanan bir

sektör konumundadır (Sikorska ve ark., 2015; TKDK, 2016).

Arıcılığın tarihi MÖ 7 000 yıllarına kadar uzanır. Arıcılıkla ilgili tarihteki ilk bulgular; İspanya'nın Valencia şehrinde yapılan kazılarda bulunmuştur. Ayrıca, MÖ 3 000'li yıllarda gezginci arıcılık olarak Mısır da Nil nehri boyunca ve Firavun mezarlarında bal kalıntıları bulunmuştur. Yine Anadolu'da Sümerler, 3 000 sene öncesinde balı, ilaç olarak kullanmışlardır (Korkmaz, 2013).

16. yüzyılda bilim ve teknolojideki gelişmelere bağlı olarak, arıcılık alanında önemli gelişmeler yaşanmıştır. Günümüz arıcılığına gelinmesinde; 1787'de ana arının havada çiftleştiğinin tespiti, 1845'de arı üreme biyolojisinin açıklanması, 1851'de çerçevesel fenni kovanın icadı, 1857'de temel petek kalıbının keşfi, 1865'de bal süzme makinesinin icadı, 1882'de larva transfer yöntemiyle ana arı yetiştirme tekniğinin keşfi, 1926'da yapay döllemenin ana arıda bulunuşu gibi icatlar arıcılığın gelişmesinde katkı sağlamıştır (Arıcılık Gazetesi, 2019).

Arıcılık, Avrupa'da genellikle geleneksel bir uğraşı; İspanya, Polonya, Macaristan, Yunanistan, Türkiye gibi ülkelerde kırsal geliri artırıcı bir araç; Uzak Doğu, Orta ve Güney Amerika ülkelerinde önemli bir dış gelir kaynağı ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Kanada, Japonya gibi ülkelerde ise ağırlıklı olarak bitkisel üretimde tozlaştırma amacıyla yapılmaktadır (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2019c).

Dünyada bal üretiminde Çin 458 000 ton ile ilk sırada yer alırken, Türkiye 104 000 ton ile ikinci, İran ise 80 000 ton ile bal üretiminde üçüncü sırada yer alır. Çin, dünyadaki bal üretiminin yaklaşık %26'unu karşılar. Kovan sayısı bakımından ise ilk sırada yer alan Hindistan, bal veriminin düşük olması sebebiyle, bal üretiminde ancak sekizinci sırada yer alır. Avrupa Birliği (AB) ülkeleri de bal üretiminde yaklaşık %22'lik bir paya sahiptir. Dünyadaki arıcılık verilerinin yıllara göre olan değişimi Tablo 1'de verilmiştir (TEPGE, 2022).

Arıcılık, bir tarım ülkesi olarak kabul edilen

Tablo 1. Dünyada arıcılık verileri.

	2016	2017	2018	2019	2020	Değişim ² (%)
Kovan Sayısı (bin adet)	90 183	91 828	93 677	93 495	94 000	0,5
Verim (kg/kovan)	20,8	20,5	19,8	18,9	18,8	-3,0
Bal (milyon ton)	1 871	1 882	1 851	1 766	1 770	0,2

Ülkemiz için ayrı bir önem arz eder. Toprağı olmayan veya az topraklı, orman içi ve kenarı köylerde yaşayan vatandaşlara yönelik, en kolay iş ve kazanç sağlamanın yolu arıcılıktan geçer. Çünkü arıcılık; toprağa bağımlı değildir, başlangıç için fazla bir sermayeye ihtiyaç duyulmadan, bay-bayan, genç-yaşlı, eğitilmiş-egitimsiz, toplumun her bireyi tarafından yapılabilen ve bir yıl gibi kısa bir süre içerisinde de gelir getirmeye başlayan bir uğraştır. Bu özellikleri ve tarımda en ucuz istihdamı sağlaması nedeniyle arıcılık, günümüzün en önemli tarımsal faaliyetleri arasında değerlendirilir (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2019c).

Ülkemizde kovan sayıları varlığına bakıldığında; Muğla birinci, Ordu ikinci ve Adana ise üçüncü sırada yer alır. Bölgesel olarak kovan sayısına bakıldığında ise; Ege bölgesi %20,9 ile birinci sırada yer alırken, Akdeniz bölgesi %16,3 payla ikinci sırada yer alır. Baldan sonra gerek endüstriyel sanayide, ilaç sektöründe ve gerekse mum yapımında kullanılmak üzere, en fazla ilgi gören arı ürünü bal mumudur. Bal mumu üretiminde ise; Adana birinci sırada iken, Muğla ikinci sırada, Sivas ise üçüncü sırada yer alır. Bal mumu üretimine 902 ton üretim ile Akdeniz Bölgesi birinci, 642 ton üretim ile Ege Bölgesi ikinci ve 472 ton üretim ile de Orta Doğu Anadolu Bölgesi üçüncü sırada yer alır. Türkiye de arıcılık verilerinin yıllara göre değişimi Tablo 2’de verilmiştir (Çevrimli ve Sakarya, 2019; TEPGE, 2022).

ARICILIKTA GÖRÜLEN KOLONİ KAYIPLARI VE MUHTEMEL SEBEPLERİ

Son yıllarda, dünya genelinde görülen arı ölümlerinde bir artış dikkati çeker. Bu bağlamda; dünyanın değişik bölgelerinden; ABD (Johnson ve ark., 2010), Kanada (Currie ve ark., 2015), Fransa (Chauzat ve ark., 2010), Almaya (Pistorius ve ark., 2009), İtalya (Mutinelli ve ark., 2010), Yunanistan (Hatjina ve ark., 2010), Slovenya

(Greest, 2011), Güney Afrika (Pirk ve ark., 2014), Çin (Liu ve ark., 2016), Japonya (Taniguchi ve ark., 2012), Brezilya (Castilhos ve ark., 2019), İsrail ve Türkiye’den (Zee ve ark., 2012) arı ölümleri bildirilmiştir.

Koloni kayıplarının ilk defa ABD’nde görülmesinin ardından, Avrupa Ülkelerinde endişe verici boyutlara ulaşması ile konuya ilişkin yapılan çalışmalara ağırlık verilmiştir. Yapılan bu çalışmalar ile, Koloni Çöküş Bozukluğu (Colony Collapse Disorder; CCD) terimi gündeme gelmiştir. Koloni kayıplarının nedenleri arasında birçok farklı görüş olsa da; genellikle; bal arısı parazitleri, patojen mikroorganizmalar, olumsuz çevre şartları, kötü bakım ve besleme, tarımsal ilaçlar, elektromanyetik radyasyon/cep telefonu sinyalleri, genetiği değiştirilmiş ürünler gibi konular genel kabul gören başlıklardır (Kavak ve ark., 2015; Sikorska ve ark., 2015; Oruç ve Çaycı, 2019b).

Tüm dünyada olduğu gibi Ülkemizde de son yıllarda arı ölümlerinde ciddi bir artış görülmüş ve bu oran 2017 yılında %42’lere ulaşmıştır (Özkırım, 2017). Bu ölümlerin özellikle Ülkemizde bitkisel üretimde kullanılan pestisitlere bağlı olarak geliştiği varsayılır. Bu varsayıma ulaşmadaki en önemli bulgulardan birisi, bu toplu arı ölümlerinin;

- 2007-2018 yılları arasında Haziran ve Temmuz aylarında Trakya Bölgesinde ayçiçeği nektar döneminde,
- 2013-2018 yılları arasında Şubat ve Mart aylarında Adana ve Osmaniye Bölgesinde mısır ekimi döneminde,
- 2018-2019 yıllarında Mart ve Nisan aylarında Bursa’da bahçelerinin çiçeklenme/nektar döneminde,
- 2018 yılında Şanlıurfa’da Harran ovasında pamuk nektar döneminde görülmesidir (Oruç ve Çaycı, 2019b).

Arı ölümlerinin olduğu bölgelerde en çok

Tablo 2. Türkiye de arıcılık verileri (Ton) (TEPGE, 2022).

	2016	2017	2018	2019	2020	Değişim ² (%)
Kovan Sayısı (1000 adet)	7 900	7 991	8 108	8 128	8 179	0,6
Verim (kg/Bal)	13,4	14,3	13,3	13,5	12,7	-5,4
Bal (ton)	105 727	114 471	107 920	109 330	104 077	-4,8
İşletme Sayısı (Adet)	84 047	83 210	81 830	80 675	82 862	2,7

kullanılan pestisitler ise Tablo 3'te verilmiştir.

Yine arı ölümlerinin en fazla görüldüğü dönemlerden birisi de narenciye çiçeklenme dönemidir. Bu dönemde narenciyede kullanılan tarımsal ilaçların etken maddeleri Tablo 4'de verilmiştir (Karahana ve ark., 2018).

Dünya da Pestisit Kullanımı

Son yıllarda, dünyada pestisit kullanımı artış gösterir. Dünyada pestisit tüketimi 2018 yılı sonu itibariyle yıllık 3,8 milyon ton olup; bunların satış tutarı da yaklaşık olarak 58 milyar dolardır. Pestisit tüketiminin; %45'ini Avrupa ülkeleri, %25'ini ABD ve %30'unu da diğer ülkeler oluşturur. 1990'lı yılların başlarında kullanılan pestisitlerin; %43'ünü OF, %18'ini piretroidler ve %16'sını da karbamatlar oluştururken; günümüzde kullanılan pestisitlerin %80'ini neonikotinoidler, %8'ini fiproniller, %8'ini karbamatlar, %3'ünü OF ve %2'sini de piretroidler oluşturur (Yalçın ve Turgut, 2016; Kartal, 2019).

Türkiye de Pestisit Kullanımı

Ülkemizde pestisit tüketimi, dünya ortalaması olan 2,0 kg/ha'nın altında ve gelişmiş ülkelere nazaran da oldukça düşüktür. Ancak polikültür tarım yapılan Antalya, Mersin,

Adana ve Şanlıurfa gibi illerde zaman zaman bu oran 3,0 kg/ha'a kadar çıkabilmektedir. 2018 yılı itibariyle ülkemizde pestisit tüketimi 59 000 ton olup, satış tutarı da yaklaşık 2,5 milyar TL'dir. Ülkemizde tarımsal ilaç kullanımının yıllara göre değişimi Tablo 5'de verilmiştir (ZMO, 2019).

Avrupa Ülkelerinin bazılarında ekili araziye hektar başına düşen tarım ilacı etken maddesi miktarı (kg/ha); Almanya'da 4,5, Belçika'da 11, Danimarka'da 2,2, Fransa'da 4,5, Hollanda'da 18, İngiltere'de 3,7, İspanya'da 2,8, İtalya'da 7,6 ve Yunanistan'da ise 6,0'dır (Arslan ve Çiçekgil, 2018).

Ülkemizde pestisitlerin türe göre kullanım oranları; % 41 fungusitler, % 22 herbisitler, % 21 insektisitler, % 5 akarisitler ve % 11 diğerleri şeklindedir. Bu oranların bölgelere göre dağılımı ise; % 29 Akdeniz Bölgesi, %19 Güney Doğu Anadolu Bölgesi, %18 İç Anadolu Bölgesi, %16 Marmara Bölgesi, % 14 Ege Bölgesi ve % 4 Karadeniz Bölgesi şeklindedir (ZMO, 2019).

Arıların Pestisitlere Maruz Kalma Yolları ve Zehirlenme Tipleri

Bal arılarının pestisitlere maruziyetine ilişkin sınıflandırma Şekil 1'de özet halinde gösterilmiştir. Üç alt bölümde

Tablo 3. Arı ölümlerinin olduğu bölgelerde en çok kullanılan pestisitler.

İnsektisitler	Fungisitler	Herbisitler	
Tiyakloprit	Tebukonazol	Glifosat Potasyum T.	Klorsülfüron
Asetamiprit	Mankozeb	Aklonifen	Dimethenamid
Azadiraktin	Azoksistrobin	Tribenuron-Metil	Asetoklor
Malatyon	Propined	İsooktil Ester	Dimethenamid-P
Lambda-sihalotrin	Maneb		
Tau-Fluvalinat	Kaptan % 50		
	Fosetil-Alüminyum		

Tablo 4. Narenciye çiçeklenme döneminde kullanılan pestisitler.

Akarasitler	İnsektisitler	
Abamektin	Piriproksifen	Sipermetrin
Spirodiklofen	Spirotetamat	Deltametrin
%80 Kükürt	İmidakloprit	Diazinon
Yazlık-kışık yağlar	Klorprifos-etil	Paratyon-metil
	Tiametoksam	Spinosaad
	Difubenzuron	Pyridaben

tespit edilen bu sınıflandırmada, başlıklar; çalışılan arı matrisleri, maruz kalma türü ve hedef popülasyon şeklinde sıralanmıştır (Benuszak ve ark., 2017).

Arılar çeşitli bitkilerden polen ve nektar toplarken, 3 farklı yol ile pestisitlere maruz kalabilirler. Bu yollar; pestisitlerin sindirim sistemi ile alınması; polen ve nektar toplarken temas sonucu pestisitlerin alınması ve pestisitlerin solunum yolu ile alınmasıdır (Yarsan, 2019).

İşçi arılar, koloninin beslenmesi ve üremenin devam ettirilebilmesi için ihtiyaç duyulan nektar, polen, propolis ve suyun toplanması esnasında, zararlı etkileri olan hem biyolojik hem de kimyasal maddelerle karşılaşır. Bunun sonucunda da, karşılaşılan bu maddeleri yaşam alanları olan kolonilere taşırlar. Bunlar; nektar, polen ve propolisin doğal tabiatında var olan toksinler (fenolik bileşikler gibi) olabileceği gibi; çevrede var olan organik kalıcı kirleticiler, mantarlar (Mikotoksin) ve mikroorganizma kaynaklı toksinler de olabilir. Yine arıcılar tarafından, arıların beslenmesi için kullanılabilen karbonhidrat içeren bir kısım şekerler ile protein içerikli takviye ürünleri, Varroa ve Nosema gibi arı hastalıklarının sağaltımı amacıyla kullanılan maddeler de arılarda zehirlenmeye sebep olabilirler (FAO, 2002; Jonhson, 2010; Filazi ve Kuzukıran, 2018; Vernich ve ark., 2018).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) arılardaki zehirlenmeleri ölü arı sayısına göre aşağıdaki gibi sınıflandırmıştır (FAO, 2002).

1. *Normal ölüm oranı*: Kovan önünde günlük 100 civarı ölü arı,
2. *Düşük düzeyde pestisit zehirlenmesi*: Kovan önünde günlük 200-400 arası ölü arı,
3. *Orta düzeyde pestisit zehirlenmesi*: Kovan önünde günlük 500-1000 arası ölü arı,
4. *Yüksek düzeyde pestisit zehirlenmesi*: Kovan önünde günlük 1000 ve üzeri ölü arı.

Pestisitlerin Arılar Üzerindeki Zehirlilik Dereceleri ve Zehirlenmeyi Etkileyen Faktörler

Arılar; pestisitlere duyarlı oldukları için, bu maddelerden oldukça fazla etkilenirler. Bunun nedeni; arılarda,

pestisitlerin yıkımlanmasında rol oynayan sitokrom P450 monoosidaz enzimlerinin yetersiz olmasıdır. Birçok pestisit grubu arılarda zehirlenmeye neden olabildiği için; bunların arılar üzerindeki toksik değerleri de değişkenlik gösterir. Bu maddelerin arılar üzerindeki zehirliliklerinin belirlenmesi için, toksisite çalışmaları yapılır. Arılarda yapılan bu toksisite çalışmaları; akut ve kronik, oral ve temas olarak, yetişkin ve larva üzerinde, laboratuvar ve saha şartlarında yapılan toksisite testlerini içerir (Oruç ve ark., 2019a). Deneysel çalışmalarda denenecek her bir doz için en az 25 arılık gruplar kullanılır ve deneyi yapılan her madde için de kullanılan arıların % 50'sini öldüren lethal (öldürücü) doz ($ÖD_{50}$) ve lethal konsantrasyon (LC_{50}) değerleri hesaplanır. Yine arıların % 50'sini öldüren etkin maddenin $\mu\text{g}/\text{ar}$ ı (mikrogram/arı) olarak toksisite değerlendirmesi de yapılır.

Arılarda pestisit toksisitesinin $ÖD_{50}$ değerine göre sınıflandırılması:

1. $ÖD_{50}$ değeri < 2 $\mu\text{g}/\text{ar}$ ı ise; Yüksek derecede toksik,
2. $ÖD_{50}$ değeri 2 – 10,99 $\mu\text{g}/\text{ar}$ ı arasında ise; Orta derecede toksik,
3. $ÖD_{50}$ değeri 11 - 100 $\mu\text{g}/\text{ar}$ ı arasında ise; Hafif derecede toksik ve
4. $ÖD_{50}$ değeri > 100 $\mu\text{g}/\text{ar}$ ı (yetişkin arıları için) ise; pratik olarak zehirsiz kabul edilir (Birişik, 2018).

Bal arılarında pestisit zehirlenmesinin derecesi; pestisit veya ilacın zehirliliği, alındığı yol, alınan miktar, formülasyon (toz, granül, sıvı, tütsü vb), arıların bakım ve beslenmesi ile hava şartları (güneşli, yağmurlu, rüzgârlı vb) gibi birçok faktöre bağlı olarak değişir (Greenpeace Akdeniz, 2018).

DSÖ pestisidleri, sıçanlardaki $ÖD_{50}$ değerine göre; Sınıf Ia (çok zehirli), Sınıf Ib (zehirli), Sınıf II (orta derecede zehirli), Sınıf III (az zehirli) ve Zehirsiz zararsız maddeler olarak sınıflandırmıştır (Yavuz, 2019).

PESTİSİTLERİN ARILAR ÜZERİNE ETKİSİ

Pestisitlerin arılar üzerindeki etkisi, doza ve diğer koşullara bağlı olarak; lethal veya sublethal şeklindedir. Bunlardan sublethal etkiler; yön bulma, yön belirleme

Tablo 5. Türkiye de Tarımsal İlaç Kullanımı (Ton).

Yıllar	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Toplam	37 651	38 555	39 534	42 611	39 440	39 723	39 026	50 054	54 098	59 000

ve iletişim kabiliyetinde azalma; beslenme davranışı ve motor aktivitelerinde değişiklik; kısa ve uzun dönemli hafıza kaybı; öğrenme davranışı ve duyuşsal algılamada bozulma; bağışıklık sisteminde düşüş ve dolayısıyla da hastalık ve zararlılara karşı duyarlılıkta artış ile üreme ve gelişim bozuklukları şeklinde ortaya çıkar (Vernich ve ark., 2019).

Pestisitlere Bağlı Gelişen Zehirlenmelerde Görülebilecek Belirtiler

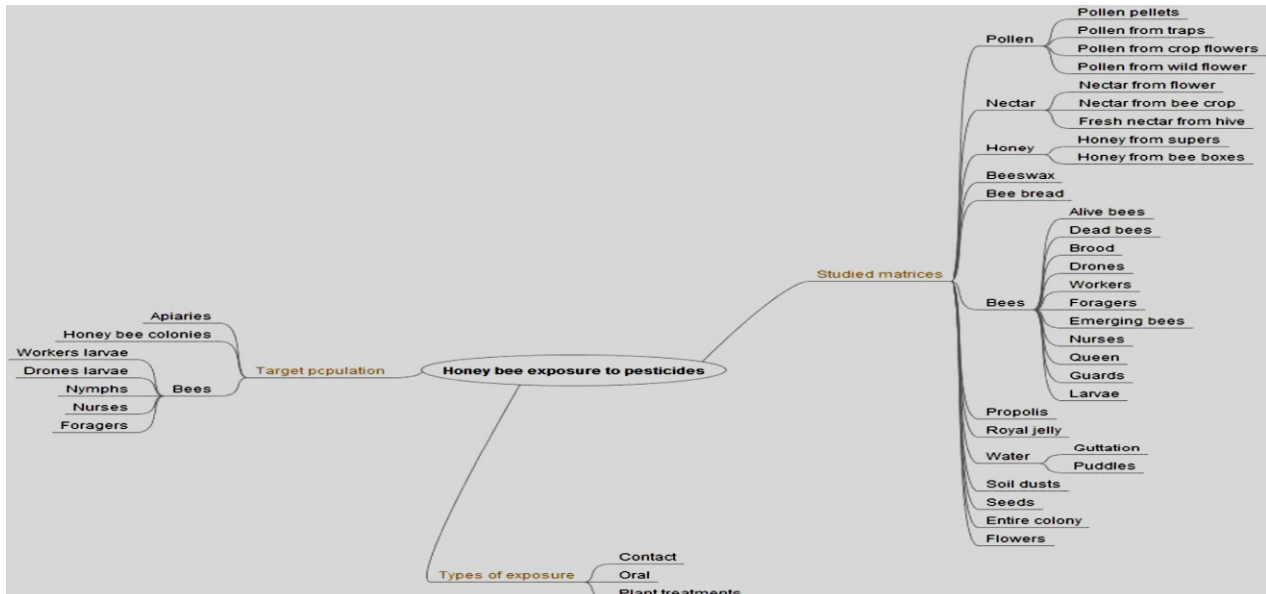
Tecrübeli bir arıci zehirlenme olgularında arılığında meydana gelen olağan dışı olaylarla arıların zehirlenme vakalarını hemen anlayabilir. Arılarda ki zehirlenme belirtileri şunlardır;

- Kovan girişinde birikmiş ölü işçi arılar. Bunlar genellikle ölen arıların %10-%20'lik bir oranını temsil eder. Çünkü ölen arılar ortamda bulunan karıncalar tarafından anında uzaklaştırılırlar. Zehirle beslenmiş arıların bir kısmı da arazide ölmüştür.
- Arılar stresli ve saldırgan olmaya başlarlar. Bu durum daha çok Lindane ve OF bileşiklerin etkisi ile oluşur.
- Arı kolonileri gürültülü ve sinirli sesler üretirler, stresli ve saldırgan davranışlar gösterirler, kovan üzerinde telaş içinde yürürler.
- Eğer kovan açılırsa, özel alarm dansı yapan arılar görmek mümkündür. Geri dönen arılar ile kovadaki arılar sipinal veya düzensiz zikzak yaparak, taraklar üzerinde dolanırlar. Bu alarm bazen uçuş faaliyetlerinin durmasına

bile neden olabilir. Yine kovana giriş çevresinde anormal danslar gözlemlenir.

- Arılar, kovanın önündeki zeminde sürünürler. Eğer karıncalar tarafından yenmezler ise bu durum 3 gün boyunca devam eder. Bazı arılar abdomenleri üzerinde kıvrılırlar.
- Zehirlenme nedeniyle ölen arıların çoğunun dili dışarıya sarkar ve uzar.
- Özellikle OF insektisitlere maruz kalmışa, mide içeriklerini çıkarırlar.
- Ölmüş ve ölmekte olan açık renkli genç ve yeni çıkış yapmış arıların görülmesi polen kontaminasyonunun bir göstergesidir.
- Zehirlenmeden sonra Kraliçe sadece erkek yumurtalar üretecektir. Bu durumun başka sebepleri de olabilir; ancak, böyle bir durum da koloni ölümüne neden olur.

Zehirlenmeler nadiren kolonideki tüm arıların aniden ölümüne sebep olur. Genellikle zehirlenmiş arılar ölmeye önce bir süre canlı kalır. Zehirlenmiş koloni, besin sağlayan işçilerini kaybeder ve gençlerin büyük kısmı da, arı sütü üretimi olması için kontamine polen ile beslendiklerinden bir süre sonra ölür. Bu yumurta bırakmak için boş hücreleri temizleyecek ve larvaları besleyecek arıların olmaması anlamına gelir. Taraktaki birikmeden sonra, kontamine (bulaşık) polen gelecek 8 ay hatta bir yıl boyunca arılar için toksik olmayı sürdürür. Genellikle kraliçe zehirlenmeden sonraki ilk 30 gün içinde yerine bir başkasını koyar, aksi halde koloni



Şekil 1. Bal arılarının maruziyetine ilişkin sınıflandırma (Benuszak ve ark., 2017).

kraliçesiz duruma gelir. Polen eksikliği olduğu zaman, arılar yumurtalarını yemeye başlarlar. Yumurta veya genç larva mevcut olmadığında ise, işçiler yeni bir kraliçe yetiştiremezler (Birişik, 2018; Oruç ve Çaycı, 2019b).

PESTİSİD TÜRÜNE GÖRE GÖRÜLEN ARI ZEHİRLENMELERİ

Organik Klorlu (OK) Pestisitler

Türkiye de 1945 yılında kullanımına başlanmış, 1960-1970 yıllarında geniş kullanım alanlarına ulaşarak 1983 yılından sonra kullanılmaları önce kısıtlanmış, daha sonra ise tamamen yasaklanmıştır. 2001 yılında Stockholm'de imzalanan ve 17 Mayıs 2004 tarihinde yürürlüğe giren Uluslararası Stockholm Sözleşmesin'de 9 adet OK yasaklanmıştır. OK'lerden DDT alt grubunda yer alan maddeler (DDD, diklorodifenildikloretan; TDE, tetraklorodifeniletan gibi) sodyum kanallarının kapanması üzerinden etkilerini gösterirken; Siklodien (endosülfan, klordan, aldrin gibi) ve BHC (Benzenheksaklorür) alt grubunda bulunanlar ise nöromediyatör madde salınımı üzerinden etkilerini gösterirler (Filazi ve ark., 2015; Daş ve Aksoy, 2016; Oruç ve Çaycı, 2019b). Arılar için toksik etkisi olan bazı OK; Aldrin, Endrin, Dieldrin, Endosülfon (α), Endosülfon (β), Endosülfan sülfat, pp-DDE, pp-DDD (TDE), Op-DDT pp-DDT, BHC, Lindan, Methoxychlor, Heptachlor ve Chlordan'dır (Yarsan, 2019).

Endosülfan

OK bir bileşik olan endosülfan; endosülfon (α), endosülfon (β) ve endosülfan sülfat şeklinde üç metabolit halinde bulunur. Suda pratik olarak çözünmeyen, topraktaki parçalanma yarı ömrü yaklaşık 50 gün olan, beyaz renkte kristalize bir maddedir. Arılar için zehirli olan endosülfanın akut temas $ÖD_{50}$ değeri 275 $\mu\text{g/g}$ arı; oral $ÖD_{50}$ değeri ise 4,4 $\mu\text{g/g}$ arı'dır (Kaya, 2014).

İngiltere'de 1981 ve 1982 yılları arasında 35 adet arıdan ve 268 koloniden toplanan arı zehirlenme örneklerinde ve yine 1983-1985 yılları arasında görülen arı zehirlenmelerinde endosülfan (4,4 mg/g) tespit edilmiştir (Anderson ve Wojtas, 1986).

İtalya'da arıların biyoindikatör olarak kullanıldığı bir çalışmada; 2003 yılında arılarda endosülfan tespit edildiği bildirilmiştir (Porrini ve ark., 2014).

Ülkemizde 2007 yılında Afyonkarahisar'da 150 adet arı kovanının öldüğü bildirilmiş, yapılan incelemeler

sonucunda ölü arılarda endosülfan tespit edilmiştir. Yine endosülfan'ın, yetiştiriciler arasında doğan husumette birbirlerine zarar vermek için maksatlı bir şekilde kullanıldığı da bildirilmiştir (Ünal ve ark., 2010).

DDT

DTT, yarılanma ömrünün 2-15 yıl olması ve bu sebeple de çevrede uzun süre dayanıklı kalması, yağ dokuda birikme eğilimi göstermesi ve oldukça zehirli olması sebebiyle, kullanımı yasaklanmış olan bir maddedir. DDT; suda az çözünen, organik çözücülerde iyi çözünen, beyaz-krem renkte toz şeklinde, kimyasal ve biyokimyasal açılarından son derece dayanıklıdır. Arılar için $ÖD_{50}$ değeri 27 $\mu\text{g/g}$ arı'dır. DTT'nin parçalanması sonucu pp-DDE, pp-DDD (TDE), Op-DDT, pp-DDT gibi metabolitler oluşur (Kaya, 2014).

Polonya'da 2013 yılında görülen arı zehirlenme olaylarında, pp-DDE (90 ng/g), Op-DDT (30 ng/g) ve pp-DDT (80 ng/g) toplamda ise 0,2 $\mu\text{g/g}$ arı miktarında tespit edildiği bildirilmiştir (Lozowicka, 2013).

Klordan

Klordan, çevrede uzun süre kalan, parçalanma yarı ömrü yaklaşık 4 yıl olan, sarı renkte, suda çözünmeyen, α ve β klordan olmak üzere iki izomere sahip olan, orta derecede zehirli bir maddedir. Organik klorlu bir bileşik olan klordanın arılar için $ÖD_{50}$ değeri 6 $\mu\text{g/g}$ arı'dır (Kaya, 2014).

İngiltere'de 1983-1985 yılları arasında görülen arı zehirlenmelerinde klordan (0,7 $\mu\text{g/g}$) tespit edilmiştir (Anderson ve Wojtas, 1986).

Gamma-HCH (Lindan)

Lindan, çevrede kalıcı olan, toprağa sıkı bir şekilde bağlı olmayan, parçalanma yarı ömrü yaklaşık 15 ay olan, kirli beyaz renkte, suda az çözünen, orta derecede zehirli bir maddedir (Kaya, 2014).

İngiltere'de 1994-2003 yılları arasında meydana gelen arı zehirlenme olaylarında, beş adet arı zehirlenme vakasında Gamma-HCH tespit edilmiştir (Barnett ve ark., 2007).

Polonya'da 2013 yılında gerçekleşen arı zehirlenme olaylarında da Gamma-HCH (0,010) $\mu\text{g/g}$ arı miktarında tespit edildiği bildirilmiştir (Lozowicka, 2013).

Organik Fosforlu (OF) ve Karbamat Grubu Pestisitler

Hem OF hem de karbamatlı insektisitler, asetilkolinesteraz (AcE) enzimini inhibe ederek etki gösterir. AcE; asetilkolini asetik asit ve koline parçalamakla görevli bir enzimdir. Nöromediyator bir madde olan asetilkolin, otonomik sinir sistemindeki tüm ganglionlarda, nöromuskuler kavşakta, sempatik sinir sistemindeki bazı postganglionik sinir uçlarında ve adrenal medullada bulunur. Her iki pestisit grubu da, AcE'nin aktif bölgesinde yer alan serin amino asidindeki hidroksil grubuna bağlanarak, enzimin etkililiğini inhibe eder ve bunun sonucunda da asetilkolinin nöromediyator olarak görev aldığı yapılarda zehirlenme belirtileri gelişir (Özkaya ve ark., 2013; Kaya, 2014; Daş ve Aksoy, 2016).

Koumafos

Koumafos, çevrede orta-kısa kalıcı, suda çözünmeyen, renksiz, kristalize, organik çözücülerde sınırlı çözünen, fosforothionat türevi bir maddedir (Kaya, 2014).

Arıcılar tarafından, paraziter bir hastalık olan *Varroa*'nın (*Varroa destructor*) tedavisinde kullanılır. OF bir bileşik olan koumafos, bal arısı sağlığı için kaygı verici temel pestisitlerden bir tanesidir. Koumafos, bal arıları tarafından az miktarda da olsa yenilmesi ve çevresel etmenlerle koloniye bulaşır ve özellikle bal, propolis, arı keki, arı sütü ve kovanda tespit edilir. Arılar için $ÖD_{50}$ değeri 3-6 µg (arı başına) arasında değişirken, yaşlı arılar için daha düşük dozlarda da toksiktir. Koumafos'a uzun süre maruz kalan arılarda; polen toplama aktivitesinde azalma, hipofarengal bezlerde büyüme ve dokularda programlanmış hücre ölümleri görülür.

İtalya'da sadece işçi arıların analize alındığı bir zehirlenme olayında; 92 adet arının 22'sinde (0,002-2,777) mg/kg arasında koumafos tespit edildiği bildirilmiştir (Porrini ve ark., 2003).

Yunanistan'da yapılan bir çalışmada 2011-2013 yılları arasında görülen arı zehirlenmesi vakalarında, 2 adet numunede Koumafos tespit edildiği bildirilmiştir (Kasiotis ve ark., 2014).

İspanya'da bal arılarında yapılan bir çalışmada; 15 adet numunede (1-34) ng/g⁻¹ arasında değişen miktarda koumafos tespit edildiği bildirilmiştir (Vernich ve ark., 2018).

Klorprifos

Klorprifos, metil ve klorprifos etil esterleri şeklinde bulunur. Suda çözünmeyen, çevrede kalıcılığı yönüyle

klorprifos metil kısa (parçalanma yarı ömrü 2-33 gün), klorprifos etil orta (parçalanma yarı ömrü 2-3 ay) olan, kristalize, renksiz bir maddedir. Temas ve mide zehiri olarak etlileyen klorprifos metil, memeliler için az zehirli (Sınıf III), klorprifos etil ise orta derecede (Sınıf II) zehirlidir. Ancak; arılar için oldukça toksiktir. Bal arısı için $ÖD_{50}$ değeri; oral yolla 350 ng/arı iken, deri yoluyla 59-79 ng/arı'dır. Ülkemizde, klorprifos etil için 84 adet imal ve 23 adet de ithal olmak üzere toplamda 107 adet; klorprifos metil için ise; 14 adet imal ve 2 adet ithal olmak üzere toplamda 16 adet ruhsatlı ürün vardır (Kaya, 2014; Tarım ve Orman Bakanlığı, 2019a).

Klorprifos, arı zehirlenmelerinde, en fazla tespit edilen ikinci pestisit olduğu bildirilmiştir (Kiljanek ve ark., 2016).

İngiltere'de 1994-2003 yılları arasında arılarda görülen zehirlenme olaylarının altısında, klorprifos tespit edildiği bildirilmiştir (Barnett ve ark., 2007).

Polonya'da 2009 yılında yapılan bir çalışmada, 5 adet arı zehirlenmesi vakasında (10-56) ng/g arasında değişen miktarlarda klorprifos tespit edildiği bildirilmiştir (Walorczyk ve Gnusowski, 2009). Yine Polonya'da 2013 yılında yapılan başka bir çalışmada, 9 adet arı zehirlenmesi vakasında klorprifos tespit edildiği bildirilmiştir (Lozowicka, 2013). Polonya'da 2016 yılında yapılan diğer bir çalışmada da, 38 adet arı numunesinde (1,5-3290) ng/g arasında değişen miktarlarda klorprifos tespit edildiği bildirilmiştir (Kiljanek ve ark., 2016).

Yunanistan'da yapılan bir çalışmada, 4 adet arı numunesinde 45 ng/g klorprifos tespit edildiği bildirilmiştir (Kasiotis ve ark., 2014).

İtalya'da 2014 yılında yapılan bir çalışmada, 16 adet arı numunesinde (2-220) ng/g arasında değişen miktarlarda klorprifos etil ve 3 adet arı numunesinde de (5-492) ng/g arasında değişen miktarlarda klorprifos metil tespit edildiği bildirilmiştir (Porrini ve ark., 2014).

İspanya'da bal arılarında yapılan bir çalışmada, 4 adet numunede (1-24) ng/g⁻¹ arasında değişen miktarlarda klorprifos tespit edildiği bildirilmiştir (Vernich ve ark., 2018).

Diazinon

Diazinon, parçalanma yarı ömrü 2-4 hafta arasında değişen, suda çözünmeyen, renksiz, kristalize, organik çözücülerde sınırlı çözünen, fosforothionat türevi bir maddedir (Kaya, 2014).

1956 yılında böcek ilacı olarak tescil edilen Diazinon; kuşlara ve su canlılarına yönelik yüksek toksisitesi sebebiyle, ABD’nde sınırlı kullanılan bir pestisit olarak sınıflandırılmıştır. Zehirliliği orta derecede (Sınıf II) olan OF bileşiklerden birisidir. 2004 yılından önce dış mekânlarda bahçe ve çimlerde, iç mekânlarda ise böcek kontrolü için kullanılan Diazinon, pet hayvanlarında kene ve bittin korunmak amacıyla da kullanılmıştır. 2004 yılında EPA, ABD’nde Diazinon kullanımını yasaklamıştır. Diazinonun arılar için son derece toksik olduğu bilinmektedir. Arılar için diazinonun $ÖD_{50}$ değeri 0,22 mg/arı’dır. Aktif metaboliti olan diazokson; kolinerjik sinapsta AcE’ni inhibe ederek etkisini gösterir (Karanth, 2014).

İngiltere’de 1983-1985 yılları arasında görülen arı zehirlenmelerinde (0,20-0,35) ppm aralığında diazinon tespit edildiği bildirilmiştir (Anderson ve Wojtas, 1986).

İtalya’da sadece işçi arıların dikkate alındığı bir zehirlenme olayında, 92 adet arının 11’inde diazinon tespit edildiği bildirilmiştir (Porrini ve ark., 2003). Yine İtalya’da 2014 yılında yapılan diğer bir çalışmada, 1 adet arı numunesinde (46) ng/g miktarında diazinon tespit edildiği bildirilmiştir (Porrini ve ark., 2014).

Ülkemizde de 2007 yılında İstanbul’da 200 adet arılı kovanın öldüğü bir arı zehirlenmesi vakasında, diazinon tespit edildiği bildirilmiştir (Ünal ve ark., 2010).

Diklorvos

Diklorvos, parçalanma yarı ömrü 1 günden az, suda az çözünen, renksiz, kristalize, organik çözücülerde sınırlı çözünen, fosfat türevi bir maddedir (Kaya, 2014).

Arılar için toksik olan Diklorvos; temas, mide ve solunum yoluyla etkili olan, zehirli (Sınıf Ib) bir OF’lu bileşiktir. Arılar için oral yolla $ÖD_{50}$ değeri 0,052-0,9 µg/arı’dır.

Polonya’da 2013 yılında yapılan bir çalışmada, 1 adet arı zehirlenmesi vakasında (302) ng/g miktarında diklorvos tespit edildiği bildirilmiştir (Lozowicka, 2013).

İngiltere’de 1994-2003 yılları arasında arılarda görülen 5 adet zehirlenme vakasının ikisinde diklorvos tespit edildiği bildirilmiştir (Barnett ve ark., 2007).

Dimetoat ve Ometoat

Dimetoat, çevrede orta derecede kalıcı olan, parçalanma yarı ömrü 4-16 gün arasında değişen, suda çözünen, renksiz, fosforodithionat türevi bir maddedir (Kaya ve

ark., 2014). Orta derece zehirli bir madde olan dimetoat (Sınıf II), bal arıları için son derece zehirlidir. Dimetoatın arılardaki akut toksisitesi arı ırkına ve ağırlığına göre farklılık gösterir. Arılar için (48 saat süreli maruziyette) $ÖD_{50}$ değeri ortalama 0,34 µg/arı’dır (Kaya, 2014; Filazi ve Kuzukıran, 2018; Verena ve ark., 2018).

Polonya’da 2009 yılında yapılan bir çalışmada, 9 adet arı zehirlenmesi numunesinde (238-4864) ng/g arasında değişen miktarlarda dimetoat, yine aynı çalışmada 11 adet arı zehirlenmesinde (93-1156) ng/g arasında değişen miktarlarda ometoat tespit edildiği bildirilmiştir (Walorczyk ve Gnusowski, 2009). Polonya’da 2013 yılında yapılan bir çalışmada ise, 4 adet arı zehirlenmesi vakasında (11-7280) ng/g arasında değişen miktarlarda dimetoat tespit edildiği bildirilmiştir (Lozowicka, 2013). Yine Polonya’da 2016 yılında yapılan diğer bir çalışmada da, 30 adet arı zehirlenmesi vakasında (1,4-1596) ng/g arasında değişen miktarlarda dimetoat tespit edildiği bildirilmiştir (Kiljanek ve ark., 2016).

İtalya’da 2014 yılında yapılan bir çalışmada, 6 adet arı numunesinde (10-40) ng/g arasında değişen miktarlarda dimetoat, yine aynı çalışmada 1 adet arı zehirlenmesinde (63) ng/g miktarında ometoat tespit edildiği bildirilmiştir (Porrini ve ark., 2014).

Metomil

Metomil, çevrede kısa süre kalıcı olan, parçalanma yarı ömrü 14 gün olan, suda çözünen, renksiz, (Z) ve (E) şeklinde iki izomere sahip olan, karbamat türevi bir maddedir (Kaya, 2014).

Ülkemizde 7 adet ithal ve 13 adet imal olmak üzere toplamda 20 adet ruhsatlı ürünü vardır. Pamukta bulunan Yeşilkurt (*Helicoverpa Armigera*), Tütün bitkisinde bulunan Şeftali yaprakbiti (*Myzus persicae*) ve Tütün kirpisi (*Thrips tabaci*) ile mücadelede, insektisit olarak kullanılır. Arılar için oral yolla $ÖD_{50}$ değeri 0,28 µg/arı, deri yoluyla $ÖD_{50}$ değeri ise 0,26 µg/arı’dır (FAO, 2002; Tarım ve Orman Bakanlığı, 2019a).

İngiltere’de 1983-1985 yılları arasında görülen arı zehirlenmelerinde (0,04-3,4) ppm düzeyinde metomil tespit edildiği bildirilmiştir (Anderson ve Wojtas, 1986).

Paratyon ve Metil-Paratyon

Paratyon, çevrede hızla parçalanmayan, suda çözünmeyen, hafif sarı renkte, fosforodithionat türevi bir maddedir (Kaya, 2014).

Arılar için toksik olan paratyonun $ÖD_{50}$ değeri (0,07-0,10) $\mu\text{g/g}$ arasında değişir. Metil-Paratyonun ise arılar için olan $ÖD_{50}$ değeri 0,165 $\mu\text{g/g}$ 'dir.

İngiltere'de 1983-1985 yılları arasında görülen arı zehirlenmelerinde metil-paratyonun (0,04-5,80) ppm düzeylerinde tespit edildiği bildirilmiştir (Anderson ve Wojtas, 1986).

İtalya'da sadece işçi arıların dikkate alındığı bir zehirlenme olayında, 105 adet arı numunesinde metil ve etil paratyon tespit edildiği bildirilmiştir (Porrini ve ark., 2003). Yine İtalya'da 2014 yılında yapılan bir diğer çalışmada ise, 1 adet arı numunesinde (6) ng/g miktarda paratyon, aynı çalışmada 1 adet arı numunesinde de (1) ng/g miktarda metil paratyon tespit edildiği bildirilmiştir (Porrini ve ark., 2014).

Malatyon

Malatyon, çevrede kalıcı etkisi kısa olan, parçalanma yarı ömrü 1-25 gün arasında değişen, suda az çözünen, renksiz, fosforodithionat türevi bir maddedir (Kaya, 2014).

Bal arıları için zehirli olan malatyonun deri yoluyla $ÖD_{50}$ değeri 35 $\mu\text{g/g}$ iken, oral yolla $ÖD_{50}$ değeri 7,11 $\mu\text{g/g}$ 'dir. Ülkemizde malathionun; 39 adet imal ve 2 adet de ithal olmak üzere, toplamda 41 adet ruhsatlı ürünü vardır (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2019a).

İtalya'da sadece işçi arıların dikkate alındığı bir zehirlenme olayında, 105 adet arı numunesinde malatyon tespit edildiği bildirilmiştir (Porrini ve ark., 2003). Yine İtalya'da 2014 yılında yapılan diğer bir çalışmada da, 1 adet arı numunesinde (74) ng/g miktarda malatyon tespit edildiği bildirilmiştir (Porrini ve ark., 2014).

İngiltere'de 1994-2003 yılları arasında arılarda görülen 9 adet zehirlenme olayından, iki adetinin malatyon kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Barnett ve ark., 2007).

Karbaril

Karbaril, çevrede kalıcı etkisi orta olan, parçalanma yarı ömrü 7-28 gün arasında değişen, suda az çözünen, renksiz, karmabat türevi bir maddedir. Arılar için yüksek toksik olan karbarilin oral yolla $ÖD_{50}$ değeri 1 $\mu\text{g/arı}$ 'dır (Kaya, 2014).

İngiltere'de 1983-1985 yılları arasında görülen arı zehirlenmelerinde, (0,02-5,80) ppm düzeylerinde karbaril tespit edildiği bildirilmiştir (Anderson ve Wojtas, 1986). Yine İngiltere'de 1994-2003 yılları arasında

arılarda görülen 8 adet olayından, 4 adetinin karbaril kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Barnett ve ark., 2007).

İtalya'da sadece işçi arıların dikkate alındığı bir zehirlenme olayında, 105 adet arı numunesinde karbaril tespit edildiği bildirilmiştir (Porrini ve ark., 2003).

Metiokarb

Arılar için yüksek zehirli bir madde olan metiokarb'ın deri yoluyla $ÖD_{50}$ değeri 0,23 $\mu\text{g/g}$ iken, oral yolla $ÖD_{50}$ değeri 0,08 $\mu\text{g/g}$ 'dir (PPDB, 2018).

Almanya'da 2008 yılında yaklaşık 12000 adet arı kolonisinin kaybedildiği zehirlenme olaylarında, (1-20) ng/g miktarlarında metiokarb tespit edildiği bildirilmiştir (Pistorius ve ark., 2009).

Piretrinler ve Piretroitler

1924 yılında Krizatem çiçeğinden izole edilen piretrinler (I ve II), yaprak biti ve hamam böcekleri üzerine olan öldürücü etkisi ile keşfedilmiştir. Piretrin I'in böcek öldürücü etkisi, Piretrin II'nin ise yere serici etkisi öne çıkar. Piretrinlerin kimyasal yapısında değişiklik yapılarak etkileri yükseltilmiş sentetik türevleri üretilmiştir. Bunlar içerisinde yapılarında siyano (CN) grubu bulunanlar Tip II, bulunmayanlar ise Tip I sentetik piretroitler olarak isimlendirilmiştir. Tip I sentetik piretroitleri permetrin, Tip II sentetik piretroitleri ise sipmetrin temsil eder (Daş ve ark., 2016). Piretrinler ve piretroitler sodyum kanallarının kapanma süresi üzerinden etkilerini gösterir ve bu etkiye böcekler, memelilere oranla çok daha fazla duyarlıdır. Memeli toksisitesinin düşük olmasının diğer nedenleri ise, memelilerde bu insektisitlerin metabolizmasının hızlı olması ve deri emiliminin az olmasıdır (Kaya, 2014).

Chrysanthemum cinerariifolium çiçeğini tozlaştıran arılar tozlaşma esnasında, piretrinlere maruz kalabilirler. Arılar için zehirli olan ($ÖD_{50} = 0,05-0,211$ $\mu\text{g/arı}$) piretrinlerin, çiçeklerin kuru ağırlığının %3'ün oluşturduğu bilinmektedir. Piretrinlerden sentezlenen sentetik piretroitlerin arılar için $ÖD_{50}$ değerleri ise; 0,017-20,00 $\mu\text{g/arı}$ arasında değişir (Filazi ve Kuzukıran, 2018).

Sipmetrin

Sipmetrin, *alfa-*, *beta-*, *zeta-*, *teta-* gibi birçok izomeri olan, suda pratik olarak çözünmeyen, toprakta orta derecede kalıcı olan, parçalanma yarı ömrü 4-56 gün arasında değişen, yarı katı halde bulunan, arılar için yüksek zehirli olan bir maddedir (Kaya ve ark., 2014).

Sipermetrinin; arılarda deri yoluyla $ÖD_{50}$ değeri 0,023 $\mu\text{g/g}$ iken, oral yolla $ÖD_{50}$ değeri 0,172 $\mu\text{g/g}$ 'dır. alfa-Sipermetrinin; arılar da deri yoluyla $ÖD_{50}$ değeri 0,033 $\mu\text{g/g}$ iken, oral yolla $ÖD_{50}$ değeri 0,059 $\mu\text{g/g}$ 'dır. beta-Sipermetrinin; arılar da deri yoluyla $ÖD_{50}$ değeri 0,014 $\mu\text{g/g}$ iken, oral yolla $ÖD_{50}$ değeri 0,05 $\mu\text{g/g}$ 'dır. zeta-Sipermetrinin; arılar da deri yoluyla $ÖD_{50}$ değeri 0,002 $\mu\text{g/g}$ iken, oral yolla $ÖD_{50}$ değeri 0,044 $\mu\text{g/g}$ 'dır (PPDB, 2018).

İngiltere'de 1994-2003 yılları arasında arılarda görülen 15 adet zehirlenme olayından, 4 adetinin sipermetrin ve 3 adetinin de alfa-sipermetrin kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Barnett ve ark., 2007).

Polonya'da 2013 yılında yapılan bir çalışmada, 11 adet arı zehirlenmesi vakasında (90-5910) ng/g arasında değişen miktarlarda zeta-Sipermetrin, 4 adet arı numunesinde (29-6300) ng/g arasında değişen miktarlarda sipermetrin ve 2 adet arı numunesinde ise (40-1344) ng/g arasında değişen miktarlarda alfa-Sipermetrin tespit edildiği bildirilmiştir (Lozowicka, 2013). Yine Polonya'da 2016 yılında yapılan bir çalışmada ise, 8 adet arı numunesinden (1,7-22,5) ng/g arasında değişen miktarlarda zeta-Sipermetrin ve 1 adet arı numunesinde de 9,7 ng/g miktarında alfa-Sipermetrin tespit edildiği bildirilmiştir (Kijanek ve ark., 2016).

Ülkemizde 2007 yılında İstanbul'da görülen ve 450 adet arılı kovanın ölmesiyle sonuçlanan bir zehirlenme vakasında, sipermetrin tespit edildiği bildirilmiştir (Ünal ve ark., 2010).

Permetrin

Permetrin, suda pratik olarak çözünmeyen, kısa orta derecede kalıcı, parçalanma yarı ömrü 30-35 gün arasında değişen, sıvı veya oda ısısında kristalleşme eğiliminde bulunan, arılar için yüksek zehirli olan bir maddedir (Kaya ve ark., 2016).

Permetrinin, arılar da deri yoluyla $ÖD_{50}$ değeri 0,024 $\mu\text{g/g}$ iken, oral yolla $ÖD_{50}$ değeri 0,13 $\mu\text{g/g}$ 'dır (PPDB, 2018).

Polonya'da 2013 yılında yapılan bir çalışmada, 1 adet arı zehirlenmesi vakasında 15650 ng/g miktarında permetrin tespit edildiği bildirilmiştir (Lozowicka, 2013).

Deltametrin

Deltametrin, suda pratik olarak çözünmeyen, kısa derecede kalıcı, parçalanma yarı ömrü 7-14 gün arasında değişen,

kristalize, arılar için yüksek zehirli olan bir maddedir (Kaya ve ark., 2014). Deltametrinin, arılarda deri yoluyla $ÖD_{50}$ değeri 0,0015 $\mu\text{g/g}$ iken, oral yolla $ÖD_{50}$ değeri 0,07 $\mu\text{g/g}$ 'dır (PPDB, 2018).

İngiltere'de 1994-2003 yılları arasında arılarda görülen 12 adet zehirlenme olayından, 1 adetinin deltametrin kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Barnett ve ark., 2007).

Polonya'da 2016 yılında yapılan bir çalışmada, 1 adet arı numunesinden 6,9 ng/g miktarda deltametrin tespit edildiği bildirilmiştir (Kijanek ve ark., 2016).

Tetrametrin

Tetrametrin, 4 adet izomere sahip, böceklerde yere serici etkisi yüksek, suda pratik olarak çözünmeyen bir maddedir (Kaya, 2014).

İngiltere'de 1994-2003 yılları arasında arılarda görülen 4 adet arı kolonisi zehirlenmesi olayından, 1 adetinin tetrametrin kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Barnett ve ark., 2007).

Tau-Fluvalinat

Tau-Fluvalinat, suda pratik olarak çözünmeyen, alkol ve eterde çözünen, arılar için orta zehirli bir maddedir (Kaya ve ark., 2014). Tau-Fluvalinatın arılar için; oral yolla $ÖD_{50}$ değeri 12,6 $\mu\text{g/arı}$ iken, deri yoluyla $ÖD_{50}$ değeri 12 $\mu\text{g/arı}$ 'dır (PPDB, 2018). Tau-Fluvalinat, böceklerde sodyum ve kalsiyum kanallarını bloke ederek etkisini gösterir. Birçok piretroid arılar için oldukça toksik iken; tau-fluvalinat, sitokrom P450 monooksijenazlar tarafından hızlı bir şekilde detoksifikasyon edilerek, tolere edilebilir. Varroa akarlarına karşı başlangıçta çok etkili olan tau-fluvalinata karşı günümüzde direnç gelişmiştir (Johnson ve ark., 2010). Ülkemizde tau-fluvalinat etken maddesi bulunduran ruhsatlı 824 mg şerit şekilde bir adet preparat da bulunmaktadır (Demirel ve ark., 2019).

Polonya'da 2016 yılında yapılan bir çalışmada, 8 adet arı zehirlenmesi kaynaklı numuneden (2-7) ng/g arasında değişen miktarlarda tau-fluvalinat tespit edildiği bildirilmiştir (Kiljenak ve ark., 2016).

Flumetrin

Flumetrin, Varroa akarına karşı dünyada arıcılar tarafından en yaygın kullanılan piretroidlerden birisidir. Arılar için yüksek toksisiteye sahip olan flumetrinin; oral yolla $ÖD_{50}$ değeri 0,178 $\mu\text{g/arı}$ iken, deri yoluyla $ÖD_{50}$

değeri 0,05 µg/arı'dır (Oruç ve ark., 2012 ; Agrebi ve ark., 2019). Ülkemizde flumetrim aktif etken maddesine sahip 4 adet preparat bulunur (Demirel ve ark., 2019).

Amitraz

Formamidin türevi olan amitraz, 1974 yılında kullanıma sunulmuş olan bir insektisittir. α2 adrenoreseptörler üzerine agonist etki ederek, monoamin oksidaz enzimi ve prostaglandin E2 enzimini inhibe eder (Özkaya ve ark., 2013). Arıcılar tarafından paraziter bir hastalık olan Varroa'ya karşı kullanılan amitraz ve metabolitleri (N-2,4-dimetilfenil formamit, N-2,4-dimetilfenil-N'-metilformamit ve 2,4-dimetilanilin), arılarda en sık tespit edilen insektisitlerden birisidir. Ülkemizde ruhsatlı amitraz etken maddesi içeren ürünler, 500 g aktif madde içeren plastik ve ahşap şerit, 265 g aktif madde içeren rulo şerit ve 400 g ve 20,5 g aktif madde içeren tütsü kâğıdı şeklinde kullanıma sunulan 5 farklı preparat halinde bulunmaktadır (Demirel ve ark., 2019). Amitraz, arılar için orta derecede zehirli bir maddedir ve deri yoluyla ÖD₅₀ değeri 50 µg/arı'dır (PPDB, 2018).

Polonya'da 2016 yılında yapılan bir çalışmada, 17 adet arı zehirlenmesi kaynaklı numuneden (5,9-147) ng/g arasında değişen miktarlarda N-2,4-dimetilfenil formamit ile 11 adet numuneden de (10,2-55800) ng/g arasında değişen miktarlarda N-2,4-dimetilfenil-N'-metilformamit tespit edildiği bildirilmiştir (Kiljenak ve ark., 2016).

İspanya'da bal arılarında yapılan bir çalışmada, 7 adet numunede (1-104) ng/g⁻¹ arasında değişen miktarlarda N-2,4-dimetilfenil formamit tespit edildiği bildirilmiştir (Vernich ve ark., 2019).

Fenilpirazol İnsektisitler

Fipronil

Fipronil, fenilpirazol insektisitleri temsil eden, toprakta yarılanma ömrü 142 gün olan, hem bitkisel üretimde insektisit olarak hem de evcil hayvanlarda akarisit olarak 1993 yılından beri kullanılan bir kimyasaldır. Ayçiçeği ve mısır tohumlarını tel kurtlarına karşı korumak amacıyla ülkemizde bu bitkilerin tohumlarının kaplanması için kullanılır. Arılar için yüksek toksisiteye sahip olan fipronil, GABA reseptörü klor kanalı üzerinden etkisini gösterir. Fipronil'in ana metaboliti olan fipronil sülfon ve fipronil desilfünil'in memeliler üzerindeki etkisi fipronilden daha fazladır. Arılar için oral yolla fipronilin ÖD₅₀ değeri 41,7

µg/arı iken, fipronil sülfon'un 64 µg/arı'dır (Demirel ve ark., 2019; Kasiotis ve ark., 2014). Fipronil'in arılar üzerindeki sublethal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; 0,025 µg/g⁻¹ dozda fipronil'e maruz bırakılan arılarda, anormal gelişim gösteren anten, kanat ve vücut büyüklüğünün normal arılardan daha küçük olduğu tespit edilmiştir (Munoz-Capponi ve ark., 2018).

Polonya'da 2009 yılında yapılan bir çalışmada, 10 adet arı kovanının etkilendiği zehirlenme vakasında (10-64) ng/g arasında değişen miktarlarda fipronil tespit edildiği bildirilmiştir (Walorczyk ve Gnusowski, 2009). Yine Polonya'da 2013 yılında 3 adet arılı kovanın etkilendiği bir zehirlenme vakasında, (8-17) ng/g arasında değişen miktarlarda fipronil tespit edildiği bildirilmiştir (Lozowicka, 2013). Polonya'da 2016 yılında 3'er adet arılı kovanın etkilendiği diğer bir zehirlenme vakasında da, (232-590) ng/g arasında değişen miktarlarda fipronil ve (2,2-26,5) ng/g arasında değişen miktarlarda da fipronil sülfon tespit edildiği bildirilmiştir (Kiljanek ve ark., 2016).

Yunanistan'da 2014 yılında yapılan bir çalışmada, arı zehirlenmesi vakalarında 81,5 ng/g miktarında fipronil ve 79,1 ng/g miktarında da fipronil sülfon tespit edildiği bildirilmiştir (Kasiotis ve ark., 2014).

Brezilya'da Aralık 2018-Şubat 2019 tarihleri arasındaki 3 aylık bir dönemde, 500 000'den fazla arı ölümü vakasıyla karşılaşılmış ve bu ölümlerin neonikotinoid ve fipronil içeren pestisitlerden kaynaklandığı bildirilmiştir (Grigori ve Publica, 2019).

Neonikotinoidler

Neonikotinoidler, etkilerini; kimyasal yapısı ve etkinliği nikotine benzediği için, arıların sinir sistemindeki nikotinik asetilkolin reseptörleri üzerinden gösterir. Arılar neonikotinoidlere, kontamine olmuş polen ve nektar ile temas veya bunların tüketimi ile maruz kalabilirler. Bu maddelerin çok küçük dozları bile arılar için toksik olabilir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda; neonikotinoidlerin, biyoçeşitlilik ve ekosistem üzerinde daha geniş etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Özdemir, 2017; Mrzlikar ve ark., 2019).

Neonikotinoid maddeler arasında; imidakloprit, klotiyandin, tiyametoksam, dinotefuran asetamiprid ve tiyakloprit bulunur. Neonikotinoidler, nitroguanidin türevi olanlar (imidakloprit, klotiyandin, tiyametoksam, dinotefuran) ve siyanoguanidin türevi olanlar (asetamiprid ve tiyakloprit) diye ikiye ayrılır. Nitroguanidin türevi

olan neonikotinoidler arılar için son derecede zehirlidir. Siyanoguanidin türevi neonikotinoidler ise arılardaki sitokrom P450 enzimleri tarafından hızla detoksifiye edildikleri için, bu maddelere karşı arılar kısmen dirençlidir. Tiyametoksamın biyotransformasyonu sonucu oluşan bir metaboliti olan klotiyonidin; tiyametoksama oranlarla nikotinik asetilkolin reseptörlere ilgisinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca neonikotinoidlere kimyasal olarak çok benzer olan; ancak EPA tarafından neonikotinoidler olarak sınıflandırılmayan, flupirandifurone ve sülfafloor gibi yeni sistemik pestisitler de geliştirilmiştir. Klotiyonidin, dinotefuran, imidakloprit ve tiyametoksam hem oral hem de temas yoluyla arılar için yüksek derecede toksik etkilidir. Tiyakloprit ve asetamiprit arılar için orta derecede toksik etkilidir. Arılar için neonikotinoidlerin deri ve oral yolla $ÖD_{50}$ değerleri Tablo 6'da verilmiştir (Hopwood ve ark., 2016; Filazi ve Kuzukıran, 2018).

Neonikotinoidler, günümüzde 120'den fazla ülkede ve 1000'den fazla ürünle, dünyada en yaygın kullanılan pestisit grubunu oluşturur. Bu maddeler, böceklerde MSS'nde sinirsel impusu bloke ederek, böcekleri felç eder. Sinir uyarılarını bloke edici bu etkileri böceklerde ve omurgasız hayvanlarda, diğer hayvanlara oranla daha etkilidir (Walker ve ark., 2013).

Toksik sınıflandırma

Yüksek Toksik (H)= $ÖD_{50}$ <2 μ g/g arı; Orta toksik (M)= $ÖD_{50}$ 2-10,99 μ g/g arı;

Hafif Toksik (S)= $ÖD_{50}$ 11-100 μ g/g arı; Toksik

Olmayan (N)= $ÖD_{50}$ >100 μ g/g arı.

Sublethal dozda neonikotinoidlere maruz kalan arılarda; uçuş ve yön bulmada problemler, tat alma duyusunda azalma, polen toplama kapasitesinde azalma ve yavaş öğrenme gibi etkiler görülür. Bu da kovanın üretkenliğini olumsuz etkiler (Hopwood ve ark., 2016).

Neonikotinoidler bitkilerde uzun süre kalabilirler. Uygulanmalarından sonra bitkilerdeki neonikotinoid kalıntısı azalabilir, fakat bazı durumlarda aylarca, hatta yıllarca bitki zararlılarına karşı toksik olacak kadar yüksek seviyede bitkide kalabilirler. Örneğin; turunçgillere tek doz tiyametoksam uygulaması 5 ay süreyle böcekler karşı koruyuculuk sağlarken, imidakloprit bitkiye uygulandığında 4 yıl süreyle tespit edilebilecek miktarlarda toprakta kalabilir. Yine; klotiyonidin toprak türüne bağlı olarak 148 gün ile 1155 gün süreyle toprakta kalabilir.

Toprağa yapılan uygulamaların tekrarlanması veya neonikotinoid içeren tohumların tekrar dikilmesi, kalıntı riskini artırır (Hopwood ve ark., 2016). Neonikotinoidlerin topraktaki yarı ömürleri Tablo 7'de verilmiştir.

Neonikotinoidler suda çözünen maddeler oldukları için, yüzey sularına ve yer altı sularına geçme potansiyeline sahiptirler. California'da yapılan bir araştırmada nehir, dere ve tarımsal drenajlardan toplanan su numunelerinin %89'unda imidakloprit tespit edildiği bildirilmiştir (Hopwood ve ark., 2016).

Arılar üzerine olan zehirli etkilerinden dolayı dünyanın birçok ülkesinde neonikotinoidlerin kullanımı yasaklanmıştır. İmidakloprit Fransa'da 2004 yılında, klotiyonidin, imidakloprit ve tiyametoksamın mısır tohumunda kullanımı İtalya'da 2008 yılında ve 2013 yılında da AB'nde yasaklanmıştır (Oruç ve Çaycı, 2019b). Ülkemizde de Tarım ve Orman Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü tarafından 19 Aralık 2018 tarihinde klotiyonidin, imidakloprit ve tiyametoksam kullanımı yasaklanmıştır (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2019b).

Almanya'da 2008 yılında yaklaşık 12000 adet arı kolonisinin kaybedildiği zehirlenme olaylarında 212,2 μ g/kg miktarında klotiyonidin tespit edildiği bildirilmiştir (Pistorius ve ark., 2009).

İtalya'da 2009 yılında görülen arı zehirlenmesi olaylarında, (3,6-39,2) ng/g arasında değişen miktarlarda klotiyonidin, (1,0-240,6) ng/g arasında değişen miktarlarda imidakloprit ve (24,8-138) ng/g arasında değişen miktarlarda da tiyametoksam tespit edildiği bildirilmiştir (Bortolotti ve ark., 2009).

Fransa'da 2009 yılında görülen arı zehirlenmesi olaylarında, 1,8 ng/g miktarında klotiyonidin tespit edildiği bildirilmiştir (Chauzat ve ark., 2010).

Yunanistan'da 2014 yılında görülen arı zehirlenmesi olaylarında, (0,7-39,9) ng/g arasında değişen miktarlarda klotiyonidin, (0,5-49,6) ng/g arasında değişen miktarlarda tiyametoksam ve (0,3-5,7) ng/g arasında değişen miktarlarda da imidakloprit tespit edildiği bildirilmiştir (Kasiotis ve ark., 2014).

Polonya'da 2016 yılında görülen arı zehirlenmesi olaylarında, (5,3-76,2) ng/g arasında değişen miktarlarda klotiyonidin, 588 ng/g miktarında tiyametoksam, (3,3-174) ng/g arasında değişen miktarlarda imidakloprit ve (21,9-28,8) ng/g arasında değişen miktarlarda da tiyakloprit tespit edildiği bildirilmiştir (Kiljanek ve ark., 2016).

Brezilya’da Aralık 2018-Şubat 2019 tarihleri arasındaki 3 aylık bir dönemde, 500 000’den fazla arı ölümü vakasıyla karşılaşılmış ve bu ölümlerin neonikotinoit ve fipronil içeren pestisitlerden kaynaklandığı bildirilmiştir (Grigori ve Publica, 2019).

Ülkemizde Adana ve Osmaniye illerinde artan arı ölümleri sonrasında arı ve peteklerde yapılan pestisit analizlerinde, klotiyonidin tespit edildiği bildirilmiştir (Oruç ve Çaycı, 2019b).

Fungisitler

Fungisitler; tarımsal bitki ve bahçe bitkilerini mantar patojenlerini kontrol etmek için kullanılan kimyasallardır. Fungisitler, bal arılarının en aktif olduğu çiçeklenme döneminde genellikle meyve ağacı mahsullerine uygulanır. Bu nedenle bal arıları polen ve nektar toplaması yaparken, tarımsal ve bahçecilik ortamlarında insektisitlerden çok mantar ilaçları ile karşılaşır. Fungisitler öncelikle yavru (kuluçka) ve larvalar üzerinde etkili olurlar, yetişkinlere karşı pek etkili değildirler. Ayrıca, fungusitler, polen ve bal mumu peteklerinde birikmeleri sonucunda, bal arılarının gıdalarının kirlenmesine de neden olurlar. Bal arılarının aktif olduğu çiçeklenme döneminde yaygın olarak kullanılan fungusitlerden olan klorothalonil, polen ve bal mumunda 300 ppm seviyesine kadar tespit edildiği bildirilmiştir. Yine; arıcılık mevsiminde ölen arılardan toplanan örneklerde arı beslemesinde kullanılan arı kekinde de yüksek oranlarda klorothalonil bulunduğu bildirilmiştir (Cloyd, 2019).

Genel olarak fungusitler tek başlarına yetişkin bal arılarına doğrudan veya dolaylı olarak en az seviyeden etki gösterir. Bal arısı larvalarına ve yavrularına doğrudan ve dolaylı olarak zararlıdır, bu da koloni sağlığını olumsuz yönde etkiler. Yapılan çalışmalar fungusitlerin tek başlarına bile özellikle de larvaları olumsuz yönde etkileyebileceğini ortaya koymuştur. Örneğin fungusit olan iprodione yetişkin bal arılarına karşı etkisiz olmasına rağmen larvaların hayatta kalmasını etkiler ve gelişim sırasında malformasyonlara neden olur. Yapılan başka bir çalışmada ise, bal arısı larvalarının klorothalonil’e yetişkinlere göre daha duyarlı olduğunu ve klorothalonil’e diyet beslenme (oral) yönden maruz kalan larvaların sağ kalımında %50’den daha fazla azalma ile sonuçlandığını göstermiştir (Cloyd, 2019).

Fungisitlerin bal arıları üzerine sublethal etkileri de olabilir. Bazı fungusitlerin dolaylı etkileri bal arılarını

beslenme yetersizliklerine benzer şekilde olumsuz yönde etkileyebilir veya bağışıklık sistemini tehlikeye sokarak bal arılarını zayıflatabilir, dolayısıyla bu durum koloniyi parazitlere ve patojenlere karşı olumsuz yönde etkiler (Cloyd, 2019).

Fungisitlerin zehirliliğini etkileyen diğer önemli bir faktör de; fungusitlerin, insektisitlerle birlikte kullanılması veya çoklu pestisit premikslerle karıştırılan formülasyonlarının kullanılmasıdır. Araştırmalar; fungusitlerin insektisitlerle birlikte kullanıldığında, özellikle insektisitlerin bal arılarına olan toksisitesinin daha da arttığını göstermiştir (Zhu ve ark., 2015). Örneğin; ergosterol veya sterol sentezini inhibe eden fungusitler; OF, piretroitler ve neonikotinoidlerin bal arıları üzerine olan toksisitesini artırır (özellikle piretroitler ve neonikotinoidlerin etkisi yaklaşık 1000 kat artar). Bunun nedeninin; fungusitlerin, bal arılarının insektisitleri metabolize etme kabiliyetini azaltmasına bağlı olduğu bildirilmiştir (David ve ark., 2016; Sgolastra ve ark., 2018). Bal arılarının zehirlenmesinde yaygın olarak tespit edilmiş fungusitler; tebuconazole, cyprodynil, carbendazim, thiophante-methyl ve metalaxyl’dir (Kiljanek ve ark., 2016; Oruç ve Çaycı, 2019b).

Böcek Gelişme Düzenleyicileri

Böcek gelişme düzenleyicileri, böcek büyümesi ve gelişimini bozarak böceklerin ölümüne yol açan ilaçlardır. Böcek gelişme düzenleyicileri, temel olarak bazı böcek zararlılarının olgunlaşmamış (larva) aşamalarında aktiftir. Üç adet böcek gelişme düzenleyici vardır. Bunlar, Kitin Sentezi İnhibitörleri (Diflubenzuron ve novaluron), Juvenile Hormon Analogları (Fenoksikarb ve Piriprosifen) ve Ektison Reseptör Agonistleri/Antagonistleri (Azadiraktin, Metoksifenozoid ve Tebufenozoid)’dir (Cloyd, 2019). Başlangıçta böcek gelişme düzenleyicilerinin bal arıları üzerine olan etkileri iyi bilinmemekle birlikte; son yıllarda yapılan çalışmalar ile böcek gelişme düzenleyicilerinin bal arılarına; özellikle de kuluçkalara ve larvalara, doğrudan zarar verdiği ve hatta yetişkin arıların davranışlarında dolaylı yönden etkili oldukları belirtilmiştir. Yaygın olarak tarım ve bahçe bitkilerinde kullanılan böcek gelişim düzenleyicileri, arılar üzerine doğrudan veya dolaylı olarak olumsuz yönde etki gösterirler (Pandey ve Bloch, 2015; Daş Aksoy, 2016; Cloyd, 2019).

Kitin Sentezi İnhibitörleri

Kitin sentezi inhibitörleri, böcek dış iskeletinin önemli bir bileşeni olan kitinin sentezini ve oluşumunu uyarmakta sorumlu olan enzimlere müdahale ederek, böcek larvalarının gelişimini engeller. Çalışmalar kitin sentezi inhibitörü olan diflubenzuron'un, bal arılarında öğrenme davranışlarını olumsuz yönde etkilediği, erişkin bal arılarının sayısını azalttığı, larva ve kraliçe yaşam süresini azalttığını göstermiştir. Diğer bir kitin sentezi inhibitörü olan novaluron ise; bal arıları için doğrudan toksiktir ve kuluçka üretimini olumsuz etkiler (Pandey ve Bloch, 2015; Daş ve Aksoy, 2016; Cloyd, 2019).

Juvenile Hormon Analogları

Juvenile hormon analogları böceklerin gelişimini durdurarak, yetişkinlerin ortaya çıkmasını ve böceklerin yaşam döngüsünü tamamlamalarını engelleyerek onların olgunlaşmamış bir aşamada kalmasına neden olur. Juvenile hormon analogu olan feneoksikarb; yetişkin işçi arıları etkiler, yetişkinlerin erken yaşlanmasına, tüm kolonilerde bal arısı larvalarının tümünün ölümüne neden olarak bir sonraki yılda yavruların sayısını ve kışın aşırı kolonilerin büyüklüğünü azaltır. Kolonilerin fenoksikarb'a maruz kalması kışlama kabiliyetini etkileyerek kışın bal arılarının hayatta kalmasını azaltır. Juvenile hormon analogu olan pirioksifen; genç işçi arılarda vitellogenin sentezini ve birikimini ve tarlacı arıların hayatta kalmasını olumsuz etkiler (Pandey ve Bloch, 2015; Cloyd, 2019).

Ektison Reseptör Agonistleri/Antagonistleri

Ektison Reseptör Agonistleri/Antagonistleri; deri değiştirme hormonunun metabolizmasını inhibe ederek, ektison veya ektisonun reseptörlerine bağlanarak larvaların veya nimflerin erken dökülmesi ve sonuçta da ölümleriyle sonuçlanan bir böcek gelişme düzenleyicileridir. Metoksifenozenoid bal arısı larvalarına ve yetişkinlere herhangi bir zararlı etki göstermezken, son yapılan çalışmalarda metoksifenozenoidin tarlacı arıların hayatta kalmasını olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir. Genel olarak tebufenozenoid'in bal arısı kolonileri veya kraliçe gelişimi üzerine doğrudan veya dolaylı olarak zararlı bir etki göstermediği belirtilmiş olmasına rağmen tebufenozenoid'in yetişkin bal arılarının öğrenme davranışlarını olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir. Azadiraktin damızlık üretimini etkilememektedir ancak kış aylarında bal arısı kolonisinde sağ kalımına olumsuz

yönde etkisi vardır (Pandey ve Bloch, 2015; Daş ve Aksoy, 2016; Cloyd, 2019).

Herbisitler

Birtkileri öldüren veya gelişimini engelleyen kimyasallara herbisit denir. Herbisitler bitkilerde bazı reaksiyonlara etki ederek bitkilerin gelişmesi veya ölümüne sebep olurlar. Bunlar; aminoasit sentezi engelleyenler, fotosentezi engelleyenler, pigment sentezini engelleyenler, fide kök/gövde gelişimini engelleyenler, mitoz bölünme engelleyiciler ve oksin tipi bitki büyüme düzenleyicileridir (Birişik, 2018).

Herbisitler istenmeyen bitki örtüleri veya bitki materyallerinin kontrolü için tarımsal ve bahçe bitkilerinde en yaygın kullanılan pestisitlerdir. Bu nedenle herbisitler bal arılarına doğrudan veya dolaylı etkilere sahiptirler. Parakuat'ın bal arılarına temas yoluyla doğrudan zararlı olduğu bildirilmiştir. Laboratuvar çalışmalarında herbisit olan 2,4-D ve triklorofeneoksi asetik asit ile besledikleri bal arısı kolonilerinde, yavru gelişimde olumsuz etki yarattığı, ancak yetişkin bal arılarında toksik etkilerinin olmadığı bildirilmiştir (Cloyd, 2019).

Glifosat

Glifosat; 5-enolpiruvil-sikimat-3-fosfat sentez (EPSP) enzimini engelleyerek bitkiyi öldürür (Ledoux ve ark., 2020).

Glifosat AB ve dünyanın gelişmiş ülkelerinde total herbisit olarak turuncgillerde, zeytin, bağ, elma ve fındık bahçelerinde, ülkemizde ise yabancı otlara karşı kullanılır. Erken ilkbahar döneminde yabancı ot kontrolünü sağlamak için toprağa uygulanır. Glifosat 10-15 gün içinde toprak mikroorganizmaları tarafından parçalanır. Glifosat'ın ana metabolizma ürünü AMPA (aminometilfosfonik asit) önemli bir toksik bileşik olarak kabul edilir (Chamkasem ve Vargo, 2017).

Dünya çapında en yaygın kullanılan geniş spektrumlu bir herbisit olan glifosat, bal arılarına doğrudan zararlı etki göstermez. Ancak araştırmalar glifosatın yiyecek arama davranışı, yön bulma veya faydalı bağırsak mikroflorasını etkileyerek bal arılarını dolaylı yoldan olumsuz etkileyebileceğini göstermiştir (Ledoux ve ark., 2020).

PESTİSİTLERİN LABORATUVAR ANALİZLERİ

Pestisit analizlerinin sonuçları, numunenin alınması, taşınması, depolanması ve işlenmesine bağlı olarak değişir.

Bu nedenle pestisit numuneleri ‘Türk Gıda Kodeksi Gıdalardaki Pestisit Kalıntılarının Resmi Kontrolü için Numune Alma Metotları Tebliği’ (2011/34)’ne göre alınmalıdır. Numunelerde bulunan pestisit miktarında ‘‘Gıda ve Yemlerde Pestisit Kalıntı Analizine Yönelik Metot Validasyonu ve Kalite Kontrol Prosedürleri’’ne göre (SANCO/12495/2011) analiz edilmesi gerekir (Tarım ve Orman Bakanlığı ,2018; GKGM, 2019).

Pestisit analizleri;

- (1) Örnek (Martrijs) hazırlama,
- (2) Ekstraksiyon,
- (3) Temizleme (Clean –up) ve
- (4) Analiz işlemleri olarak dört temel aşamadan oluşur.

Örnek Hazırlama

Martrijs yapısına bağlı olarak analizi yapılacak madde katı bir madde ise, tüm örneği temsil edecek miktarda örnek alınarak, homojenize edilir. Homojenizasyon işlemi için karıştırıcı, parçalayıcı ve mikser gibi aletler kullanılır. Sıvı örneklerde (Süt, Su) ise parçalama işlemine gerek kalmadan karıştırıcı (Mikser) aletler kullanılarak, homojenizasyon sağlanır (Yavuz ve Aksoy,2016; Tarım ve Orman Bakanlığı,2018).

Ekstraksiyon

Pestisit analizlerinde ekstraksiyon yöntemini belirleyen en önemli parametre, analitin polaritesi ve sudaki çözünürlüğüdür. Analizde uygulanacak metodun seçiminde ise, analitin polaritesi ve sudaki çözünürlüğünün yanında, matriks’in yapısı, yağ içeriği ve izolasyonu da dikkate alınmalıdır. Çoklu kalıntı analizlerinde matriksten kaynaklanan bulaşanların ortamdaki uzaklaştırılması gerekir. Asetonitril, aseton ve etil asetat en çok kullanılan organik çözücülerdir (Tette ve ark., 2016).

Temizleme (Clean-up)

Ekstraksiyondan sonra örnek ekstraktında yüksek molekülü bileşikler (protein, karbonhidrat, lipid) kalabilir. Doğru analiz ve düşük tespit limitlerine ulaşılabilmesi için ve analiz yapılan cihazların korunması amacıyla bu bileşiklerin ortamdaki uzaklaştırılması gerekir. Ekstraktın saflaştırma işlemine temizleme adı verilir. Sabunlaştırma, jel kromatografi ve çöktürme; temizleme işlemlerinde kullanılan bazı yöntemlerdir (Yavuz ve Aksoy,2016; Tette ve ark., 2016).

Analiz

Bal arıları için toksik etkiye sahip olan pestisitler vb maddelerin analizleri, kimyasal yapısına göre uygun analitik cihazlar ile yapılır. Uçucu karaktere sahip kimyasal maddelerin analizi, elektron yakalama dedektörü (ECD; electron-captur dedector), azot-fosfor dedektörü (NPD; nitrogen-phosphorus dedector), alev fotometrik dedektör (FID; flame photometric detector)’e sahip GC-MS ve GC-MS/MS sistemleriyle yapılır. Likit karaktere sahip olan kimyasal maddelerin analizleri ise; HPLC, UHPLC, LC-MS veya LC-MS/MS gibi hassas cihazlarla yapılır. Piretroit grubu pestisitlerin tespitinde GC-MS kullanılırken, neonikotinoid grubu pestisitlerde LC-MS/MS cihazı tercih edilir (Kiljanek ve ark., 2016; Kiljanek ve ark., 2017). Birçok pestisitinin analizinde LC-MS’in, GC-MS’e göre daha geniş bir arama alanı olması ve daha duyarlı olması gibi avantajları sebebiyle; daha sık tercih edilir (Vernich ve ark., 2018).

QuEChERS Metodu

Pestisit analizlerinde en yaygın olarak kullanılan ekstraksiyon metodudur. QuEChERS (Quick, Easy, Cheap,

Tablo 6. Arılar için Neonikotinoidlerin Toksik Değerleri (Arı Başına), (Hopwood ve ark., 2016).

Neonikotinoid	Toksik Sınıflandırma	Deri yoluyla ÖD ₅₀	Oral ÖD ₅₀
Asetamiprit	O	7,1 µg-8,09 µg	8,85-14,52 µg
Klotiyamidin	Y	0,022 µg-0,044 µg	0,00379 µg
Dinotefuran	Y	0,024 µg-0,061 µg	0,0076-0,023 µg
İmidakloprit	Y	0,0179 µg-0,243 µg	0,0037 µg-0,081 µg
Tiyakloprit	O	14,6 µg-38,83 µg	8,51-17,3 µg
Tiyametoksam	Y	0,024 µg-0,029 µg	0,005 µg

(µg, mikrogram,10⁻⁶g)

Effective, Rugged, Safe) birden çok pestisit farklı matrikslerden analiz edilmesini sağlayan, hızlı, kolay, ucuz, etkili, sağlam ve güvenli ekstraksiyon metodu olarak tanımlanır. Günümüzde bu metodun kullanıldığı; farklı matrislerde, farklı miktarlarda zenginleştirme yapılmış yüzlerce pestisit üzerinde, hem GC-MS hem de LC-MS/MS cihazları ile laboratuvarlarda yapılmış birçok çalışma vardır. QuEChERS metodunun önemli bir özelliği de esnek bir yaklaşım sunarak, laboratuvar şartlarına, kullanılan cihaz özelliklerine ve matriksin yapısına göre metotta değişiklikler yapılabilmesidir. QuEChERS metodlar zamandan tasarruf sağlaması, daha az kimyasal madde kullanılması, ekonomik olması, basit, geri kazanımın yüksek olması, az çaba sarf edilmesi ve sistemik hataları en aza indirmesi nedenleriyle günümüzde yapılan bilimsel çalışmalarda en çok başvurulan metod konumundadır (Çetinkaya, 2015; Tette ve ark., 2016; Vernich ve ark., 2016).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Tarım alanlarının ve üretim çeşitliliğinin fazla olduğu ortamlarda pestisit kullanımı kaçınılmazdır. Bitkisel üretim yapılan ve pestisit uygulanan alanların arılarında ortak kullanım alanı olması, arıcılar ve pestisit kullanan çiftçilerin pestisitlerin arılar üzerine olan etkileri hakkında yeterli bilgi ve bilince sahip olmaması, pestisit kullanan çiftçiler ile aynı bölgede bulunan arıcılar arasındaki iletişimin yetersiz olması, ilgili kamu görevlilerinin yeterli bilgi ve tecrübeye sahip olmaması, kontrol ve yasal uygulamaların yeterince yapılamaması, Merkez Arıcılar Birliği ve Arıcı Birliklerinin bilgi ve yönlendirme yetersizliği, Üniversitelerde konu ile ilgili verilen bilgilerin yetersiz kalması, ruhsatsız kullanılan tarım ilaçları gibi etmenler arılarda pestisit zehirlenmelerinin oluşmasında rol oynayan sebepler arasındadır.

Pestisitlerden kaynaklanan arı ölümleri tamamen engellenmesi düşünülemez, ancak arıların pestisit uygulamalarına karşı korunması ile pestisitlerden kaynaklanan arı ölümleri azaltılabilir. Alınacak önlemler saha şartları göz önüne alınarak; arıcılar, arıcı birlikleri, bilim insanları, bakanlık yetkilileri ile tarımsal üretim yapan çiftçilerin ve pestisit üretimi yapan firmaların bilinçli ve koordinasyon içinde hareket etmesiyle mümkündür. Arılar pestisitlerin uygulandığı alanlardan en az 7 km uzaklıktaki güvenli bir alana taşınmalıdır. Ancak bu uygulama ile de çiftçiler tozlaşma için arılardan yeterince faydalanamazlar. Zirai Mücadele yapılacak yerlerde ve çevresindeki arıcılara, mücadele yapacak kuruluş veya şahıslar tarafından yedi gün önce, kullanılacak ilacın cinsi, atılma zamanı, etki süresi ve bal arılarına olan toksik etkisinin bildirilmesi gerekir. Arılarda toksik olduğu belirtilen ilaçlar yerine mümkünse zararsız muadillerinin kullanılması ve kullanılan ilaçların da etiketlerinde belirtilen tavsiyelere göre uygulanması önemlidir. Atık ve ambalajların kullanıcılar tarafından uygun bir şekilde bertaraf edilmesi gerekir. Arıların su içtiği kaynaklara ilaçlar bulaştırılmamalıdır. İlaçlamaların akşam üzeri ve sabah erken saatlerde, arıların uçuş yapmadıkları zamanlarda uygulanmasına özen gösterilmelidir. Arıcılar ve tarımsal üretim yapan çiftçilere pestisitlerin arılar üzerine olan etkileri hakkında eğitimler düzenlenip, yeterli bilgi ve bilince ulaşması sağlanmalıdır. İlgili kamu kurumları tarafından resmi kontrol ve denetimlerin etkin ve sürekli bir şekilde yapılmasına dikkat edilmelidir. Üniversitelerde arı hastalıkları, arı yetiştiriciliği vb. konularda eğitim verilerek, konu üzerinde uzman personelin yetiştirilmesine çalışılmalıdır.

Tablo 7. Neonikotinoidlerin Topraktaki Yarı Ömrü.

Neonikotinoid	Topraktaki Yarı Ömrü
Asetamiprit	1-8 Gün
Klotiyamidin	148-1155 Gün
Dinotefuran	138 Gün
İmidakloprit	40-997 Gün
Tiyakloprit	1-27 Gün
Tiyametoksam	25-100 Gün

KAYNAKLAR

- Agrebi, N. E., Olivier, W., Bruno, U., Ellen, L., Dirk, D., De Graaf, C. & Saegerman, C. (2019). Belgian case study on flumethrin residues in beeswax: Possible impact on honeybee and prediction of the maximum daily intake for consumers. *Science of the Total Environment*, 687, 712–719.
- Anderson, F. J. & Wojtas, A. M. (1986). Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) Contaminated with Pesticides and Polychlorinated Biphenyls. *Entomol*, 79: 1200-1205.
- Arıcılık Gazetesi (2019). Arıcılığın Tarihçesi ve Gelişmesi. Erişim Adresi: <http://www.aricilikgazetesi.com.tr/aricilik/4-ariciligin-tarihcesi-ve-gelismesi-aricilik-gazetesi-turkey-beekeeping-newspaper-guner-kayral.html>. Erişim Tarihi: 12.12.2019.
- Arslan, S. & Çiçekgil, Z. (2018). Türkiye’de Tarım İlacı Kullanım Durumu ve Kullanım Öngörüsü. *TEAD*, 1-12.
- Barnett, A. E., Charlton, J. A. & Fletcher, M. R. (2007). Incidents of bee poisoning with pesticides in the United Kingdom, 1994-2003. *Pest Management Science*, (63), 1051-1057.
- Benuszak, J., Laurent, M. & Chauzat, M. P. (2017). The exposure of honey bees (*Apis mellifera*; Hymenoptera: Apidae) to pesticides: Room for improvement in research. *Science of the Total Environment*, 423-438.
- Birişik, N. (2018). Pestisitlerin İnsan Sağlığına ve Çevreye Olan Etkileri. N. Birişik, A. Özden, A. Karahan, M. Sezgen, S. Ertürk, & M. Alkan içinde, *Teoriden Pratiğe Kimyasal Mücadele* (s. 217-221). Ankara: Matsa Basımevi.
- Bortolotti, L., Sabatini, A. G., Mutinelli, F., Astuti, M., Lavazza, A., Piro, R. & Porrini, C. (2009). Spring honey bee losses in Italy. *Julius-Kühn-Archiv*, (423), 148-152.
- Castilhos, D., Bergamo, G. C., Gramacho, K. P. & Gonçalves, L. S. (2019). Bee colony losses in Brazil: a 5-year online survey. *Apidologie*, 263-272.
- Chamkasem, N. & Vargo, J. D. (2017). Development and Independent Laboratory Validation of an Analytical Method for Direct Determination of Glyphosate, Glufosinate, and Aminomethylphosphonic Acid in Honey by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Regulatory Science*, 1-9.
- Chauzat, M. P., Martel, A. C., Blanchard, P., Clement, M. C., Schurr, F., Lair, C., Ribiere, M., Wallner, K., Rosenkranz, P. & Faucon, J. P. (2010). A case report of a honey bee colony poisoning incident in France. *Journal of Apicultural Research*, 113-115.
- Clody, R. A. (2019). Effects of Pesticides and Adjuvants on the Honey Bee, *Apis mellifera*: An Updated Bibliographic Review, *Modern Beekeeping - Bases for Sustainable Production*. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.89082>.
- Currie, R. W., Pernal, S. F. & Novoa, E. G. (2015). Honey bee colony losses in Canada. *Journal of Apicultural Research*, 104-106.
- Çetinkaya, Ö. A. (2015). Pestisit Analizleri. Erişim Adresi: <http://gidalab.tarimorman.gov.tr:https://gidalab.tarimorman.gov.tr/gidareferans/Belgeler/B%C3%B6l%C3%BCmler/Pestisit-Egitim-Notu2015.pdf>. Erişim Tarihi: 11.05.2019.
- Çevrimli, M. B. & Sakarya, E. (2019). Arıcılık Ekonomisine Giriş ve Saha Verileri ile Bir Değerlendirme. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, 40-49.
- Daş, Y. K. & Aksoy, A. (2016). Pestisitler. *Türkiye Klinikleri*, 2 (2): 1-14.
- David, A., Cristina, B., Alaa, A. S., Elizabeth, N., Ellen, L. R., Elizabeth, M. H. & Dave, G. (2016). Widespread contamination of wildflower and bee-collected pollen with complex mixtures of neonicotinoids and fungicides commonly applied to crops. *Environment International*, 88, 169–178.
- Demirel, M., Keskin, G. & Kumral, N. A. (2019). Varroa Mücadelesinde Sentetik ve Organik Akarisitlerin Kullanım Olanakları. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 19 (1): 96-109.
- FAO (2002). <http://www.fao.org>. Erişim Adresi: http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Specs/methomyl.pdf. Erişim Tarihi :10.09.2019.
- Filazi, A. & Kuzukıran, Ö. (2018). Arı Toksikolojisi. *Türkiye Klinikleri*, 33-41.
- Filazi, A., Yurdakök Dikmen, B. & Kuzukıran, Ö.

- (2015). Çevresel Kirleticilerden Kaynaklanan Zehirlenme Olguları. Türkiye Klinikleri,1 (3): 45-52.
- GKGM (2019) Gıda ve Yemlerde Pestisit Kalıntı Analizine Yönelik Metot Validasyonu ve Kalite Kontrol Prosedürleri (2012). Erişim Adresi: [www.tarimorman.gov.tr:https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/G%C4%B1da%20ve%20Yem%20Hizmetleri/12495_pestisit_el_kitabi.pdf](http://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/G%C4%B1da%20ve%20Yem%20Hizmetleri/12495_pestisit_el_kitabi.pdf). Erişim Tarihi: 05.11.2019.
- Greenpeace Akdeniz (2018). Arılar Yaşasın Diye. Erişim Adresi: <https://www.greenpeace.org/turkey/raporlar/rapor-arilar-yasasin-diye/>. Erişim Tarihi: 12.11.2019.
- Greest, B. (2011). Bee poisoning incidents in the Pomurje region of Eastern Slovenia in 2011. 11th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group (s. 124). Wageningen (The Netherlands): Pieter A. Oomen, Helen Thompson.
- Grigori, P. & Publica, A. (2019). Half a billion bees dead as Brazil approves hundreds more pesticides. Erişim Adresi: <https://news.mongabay.com/2019/08/half-a-billion-bees-dead-as-brazil-approves-hundreds-more-pesticides/>. Erişim Tarihi: 23.08.2019.
- Hatjina, F., Bouga, M., Karatasou, A., Kontothanasi, A., Charistos, L., Emmanouil, C. & Maistros, A. D. (2010). Data on honey bee losses in Greece: a preliminary note. Journal of Apicultural Research, 116-118.
- Hopwood, J., Code, A., Yaughan, M., Biddinger, D., Shepherd, M., Black, S. H., Mader, E. L. & Mazzacano, C. (2016). How Neonicotinoids Can Kill Bees. Pennsylvania: The Xerces Society for Invertebrate Conservation.
- Johnson, R. M., Marion D. E., Christopher, A. M. & Maryann, F. (2010). Pesticides and honey bee toxicity – USA, Apidologie, 41, 312-331.
- Karahan, A., Kutlu, M. A. & Karaca, İ. (2018). Thiacloprid'in, Anadolu Bal Arısı (Apis mellifera anatoliaca) ve Kafkas Bal Arısı (Apis mellifera caucasica)'nın Yaşam Sürelerine Etkileri. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 5 (3), 245-252.
- Kartal, N. M. (2019). Neonicotinoid pesticide applications outcomes; contaminate honey and honey bees. Türkiye Halk Sağlığı Dergisi, 88-91. doi:10.20518/tjph.405719.
- Karant, S. (2014). Diazinon. Encyclopedia of Toxicology (s. 55-56). Elsevier Inc.
- Kasiotis, K. M., Anagnostopoulos, C., Anastasiadou, P. & Machera, K. (2014). Pesticide residues in honeybees, honey and bee pollen by LC-MS/MS screening: Reported death incidents in honeybees. Science of the Total Environment, 633-642.
- Kavak, G., Biyik, S. & Güler, A. (2015). Son Yıllarda Görülen Koloni Kayıpları ve Muhtemel Sebepleri. Uludag Bee Journal, 33-40.
- Kaya, S. (2014). Pestisidler. İçinde: Sezai Kaya, ed. Veteriner Toksikoloji (s. 301-391). Ankara: Medisan.
- Kiljanek, T., Niewiadowska, A., Gawel, M., Semeniuk, S., Borzecka, M., Posyniak, A. & Pohorecka, K. (2017). Multiple pesticide residues in live and poisoned honeybees-Preliminary exposure assessment. Chemosphere, 36-44.
- Kiljanek, T., Niewiadowska, A., Semeniuk, S., Gawel, M., Borzecka, M. & Posyniak, A. (2016). Multi-residue method for the determination of pesticides and pesticide metabolites in honeybees by liquid and gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry-Honeybee poisoning incidents. Journal of Chromatography A, 100-114.
- Korkmaz, A. (2013). Anlaşılabilir Arıcılık (s. 1-2). Samsun Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü, Samsun.
- Ledoux, M. L., Navam, H., Xiaofan, Y. U., Luke, H. & Lee, S. O. (2020). Penetration of Glyphosate into the Food Supply and the Incidental Impact on the Honey Supply and Bees. Food Control, 109, 106859.
- Liu, Z., Chen, C., Niu, Q., Qi, W., Yuan, C., Su, S., Liu, S., Zhang, Y., Zhang, X., Ji, T., Dai, R., Zhang, Z., Wang, S., Gao, F., Guo, H., Lv, L., Ding, G. & Shi, W. (2016). Survey results of honey bee (Apis mellifera) colony losses in China (2010–2013). Journal of Apicultural Research, 1-9.
- Lozowicka, B. (2013). The development, validation and application of a GC-dual detector (NPD-ECD) multi-pesticide residue method for monitoring bee poisoning incidents. Ecotoxicology and

- Environmental Safety, (97-2013), (s.210-222).
- Mrzlikar, M., Heath, D., Heath, E., Markelj, J., Kandolf B. A. & Prosen, H. (2019). Investigation of neonicotinoid pesticides in Slovenian honey by LC-MS/MS. *Lwt*, 104, 45-52. doi:10.1016/j.lwt.2019.01.017.
- Muñoz-Capponi, E. A., Silva-Aguayo, G., Rodríguez-Maciel, J. C. & Rondanelli-Reyes, M. J. (2018). Sublethal exposure to fipronil affects the morphology and development of honey bees, *Apis mellifera*. *Bulletin of Insectology*, 71 (1): 121-130.
- Mutinelli, F., Costa, C., Lodesani, M., Baggio, A., Medrzycki, P., Formato, G. & Porrini, C. (2010). Honey bee colony losses in Italy. *Journal of Apicultural Research*, 119-120.
- Oruç, H. H. & Çaycı, M. (2019a). Türkiye’de Arılarda Zehirlenmeler. *TAB Arıcılık Dergisi*, 2, (6-9).
- Oruç, H. H. & Çaycı, M. (2019b). Türkiye’de Zehirlenme Şüpheli Arı Ölümleri. I. Uluslararası VI. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi (s. 162-170). Kayseri: Aktaş Ofset Matbaacılık.
- Oruç, H. H., Hranitz, J. M., Sorucu, A., Duell, M., Cakmak, I., Aydın, L. & Orman, A. (2012). Determination of Acute Oral Toxicity of Flumethrin in Honey Bees, *Journal of Economic Entomology*, 105 (6), 1890-1894.
- Özdemir, N. (2017). Neonikotinoid Pestisitler ve Arı Sağlığına Etkileri. *Uludağ Arı Dergisi*, 17 (1), 44-48.
- Özkaya, G., Çeliker, A. & Köçer G. B. (2013). İnsektisit zehirlenmeleri ve Türkiye’deki durumun değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 70 (2), 75-102.
- Özkırım, A. (2017). Erişim Adresi: www.takvim.com.tr. <https://www.takvim.com.tr> Erişim Tarihi : 23.09.2019.
- Pandey, A. & Bloch, G. (2015). Juvenile hormone and ecdysteroids as major regulators of brain and behavior in bees. *Insect Science*, 12, 26–37.
- Pirk, C. W., Human, H., Crewe, R. M. & Engelsdorp, D. V. (2014). A survey of managed honey bee colony losses in the Republic of South Africa - 2009 to 2011. *Journal of Apicultural Research*, 35-42.
- Pistorius, J., Bischoff, G., Heimbach, U. & Stahler, M. (2009). Bee poisoning incidents in Germany in spring 2008 caused by abrasion of active substance from treated seeds during sowing of maize. 10th International Symposium of the ICP-Bee Protection Group, (s. 118-126).
- PPDB (2018). Pesticides Properties Database. Erişim Adresi: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/index.htm>. Erişim Tarihi: 12.12.2019.
- Porrini, C., Caprio, E., Tesoriero, D. & Di Prisco, G. (2014). Using honey bee as bioindicator of chemicals in campanian agroecosystems (South İtaly). *Bulletin of Insectology*, 67 (1), (s. 118-126).
- Porrini, C., Sabatini, A. G., Girotti, S., Fini, F., Monaco, L., Celli, G., Bortolotti, L. & Ghini, S. (2003). The death of honey bees and environmental pollution by pesticides: the honey bees as biological indicators. *Bulletin of Insectology*, 56 (1), 147-152.
- Sgolastra, F., Sonia, B., Teresa, R., Simone, T., Piotr, M., Roberto, M. H., Claudio, P. & Ilaria, B. (2018). Lethal effects of Cr(III) alone and in combination with propiconazole and clothianidin in honey bees. *Chemosphere*, 191, 365-372.
- Sikorska, M. G., Sniegocki, T. & Posyniak, A. (2015). Determination of neonicotinoid insecticides and their metabolites in honey bee and honey by liquid chromatography tandem mass sepectrometry. *Journal of Chromatography B*, 132-140.
- Taniguchi, T., Kita, Y., Matsumoto, T. & Kimura, K. (2012). Honeybee Colony Losses during 2008~2010 Caused by Pesticide Application in Japa. *Journal of Apiculture*, 15-27.
- Tarım ve Orman Bakanlığı (2018). Ulusal Kalıntı İzleme Planı- 2018. Erişim Adresi: https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/DB_Gida_Kont/Ulusal_Kalinti_Izleme_Plani_2018.pdf. Erişim Tarihi: 13.11.2019.
- Tarım ve Orman Bakanlığı (2019a). Tarım ve Orman Bakanlığı. Erişim Adresi: <https://bku.tarim.gov.tr/BKURuhsat/Index>. Erişim Tarihi: 07.10.2019.
- Tarım ve Orman Bakanlığı (2019b). Tarım ve Orman Bakanlığı. Erişim Adresi: <https://aydin.tarimorman.gov.tr/Duyuru/263/Neonicotinoid-Grubu-Aktif-Maddelerinin-Yasaklanmasi-Ve>

- Kisitlanması-Hk. Erişim Tarihi: 07.10.2019.
- Tarım ve Orman Bakanlığı (2019c). Erişim Adresi: <https://www.tarimorman.gov.tr/Konular/Hayvancilik/Arıcılık>. Erişim Tarihi: 07.10.2019.
- TEPGE (2022). Tarım Ürünleri Piyasaları, Arıcılık, Ocak 2022, Ürün No:26 Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, Erişim Adresi: <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler>. Erişim Tarihi: 08.04.2022.
- Tette, P. A., Souza, R., Guidi, L., De Abreu, G. M. B. & Fernandes, C. (2016). Pesticides in honey: A review on chromatographic analytical methods. *Talanta*, 149, 124-141. Doi:10.1016/j.talanta.2015.11.045.
- TKDK (2016). Arıcılık Sektör Toplantısı Sonuç Raporu. Tarım ve Kırsal Kalkınma Destekleme Kurumu. Erişim Adresi: <https://www.tkd.gov.tr/Content/File/Yayin/Rapor/Arıcılıkv2.pdf>. Erişim Tarihi: 01.02.2021.
- Ünal H. H, Oruç H. H, Sezgin, A. & Kabil, E. (2010) Türkiye’de, 2006-2010 Yılları Arasında, Bal Arılarında Görülen Ölümler Sonrasında Tespit Edilen Pestisitler. *Uludag Bee Journal* November, 10 (4), 119-125.
- Verena, C., Yvonne, J., Maren, V. & Karl, F. (2018). Transcriptional and physiological effects of the pyrethroid deltamethrin and organophosphate dimethoate in the brain of honey bees (*Apis mellifera*). *Environmental Pollution*, 247-259.
- Vernich, P. C., Calatayud, F., Simo, E. & Pico, Y. (2018). Pesticide residues in honey bee pollen and beeswax: Assessing beehive exposure. *Environmental Pollution*, 106-114.
- Vernich, P. C., Calatayud, F., Simo, E., Aguilar P. J. A. & Pico, Y. (2019). A two-year monitoring of pesticide hazard in-hive: High honey bee mortality rates during insecticide poisoning episodes in apiaries located near agricultural settings. *Chemosphere*, 471-480.
- Walker, L., Seiler, A., Perrone, S., Jenkins, P., Stevens, S. & Kimbrell, A. (2013). *Pollinators & Pesticides*. 660 Pennsylvania Avenue S.E., Suite 302 Washington: Center for Food Safety.
- Walorczyk, S. & Gnusowski, B. (2009). Development and validation of a multi-residue method for the determination of pesticides in honeybees using acetonitrile-based extraction and gas chromatography–tandem quadrupole mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1216, 6522–6531.
- Yalçın, M. & Turgut, C. (2016). Bal Arılarında Koloni Kaybı. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 13 (1), 151-157.
- Yarsan, E. (2019). Balda Kirletici Maddeler. I. Uluslararası VI. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi (s. 147-160). Kayseri: Aktaş Ofset Matbaacılık.
- Yavuz, O. (2019). Biyosidal ürünler, halk ve çevre sağlığı alanında kullanılan pestisitler ve güvenli kullanımları. I. Uluslararası VI. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi (s. 13-27). Kayseri: Aktaş Ofset Matbaacılık.
- Yavuz, O. & Aksoy, A. (2016). Pestisit Analizlerinde Kullanılan Metotlar. *Türkiye Klinikleri*, 89-100.
- Zee, R. V., Pisa, L., Andonov, S., Brodschneider, R., Charriere, J. D., Chlebo, R., Coffey, M. F., Crailsheim, K., Dahle, B., Gajda, A., Gray, A., Drazic, M. M., Higes, M., Kauko, L., Kence, A., Kence, M., Kezic, N., Kiprijavnoska, H., Kralj, J., Kristiansen, P., Hernandez, R. M., Mutinelli, F., Nguyen, B. K., Otten, C., Özkırım, A., Pernal, S., F., Peterson, M., Ramsay, G., Santrac, V., Soroker, V., Toposka, G., Uzunov, A., Vejsnaes, F., Wei, S. & Wilkins, S. (2012). Managed honey bee colony losses in Canada, China, Europe, Israel and Turkey, for the winters of 2008-9 and 2009-10. *Journal of Apicultural Research*, 100-114.
- Zhu, Y. C., Adamczyk, J., Rinderer, T., Yao, J., Danka, R., Luttrell, R. & Gore, J. (2015). Spray Toxicity and Risk Potential of 42 Commonly Used Formulations of Row Crop Pesticides to Adult Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, 108 (6), 2640-2647.
- ZMO (2019). Ülkemizde Bitki Koruma Ürünleri ve Buna Bağlı Konular Üzerine Değerlendirme. Erişim Adresi: http://www.zmo.org.tr/:http://www.zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=30892&tipi=5&sube=0. Erişim Tarihi: 14.11.2019.



Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni
Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association
e-ISSN: 2667-8381

Selma KOCADEMİR^{1,2a}
Kader YILDIZ^{2b}

¹Tarım ve Orman Bakanlığı, Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü, Parazitoloji Laboratuvarı, Ankara
²Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kırıkkale
³Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji A.D., Kırıkkale

ORCID^a: 0000-0001-6921-2616
ORCID^b: 0000-0001-5802-6156

***Sorumlu Yazar:** Selma KOCADEMİR
E-Posta: selmavetkocademir@hotmail.com

Geliş Tarihi: 08.03.2022
Kabul Tarihi: 27.04.2022

13 (1): 47-54, 2022
DOI: 10.38137/vftd.1084693

***TOXOCARA CANIS* VE VİSCERAL LARVA MİGRANS**

ÖZET. *Toxocara canis*, Türkiye’de dahil olmak üzere dünyanın pek çok ülkesinde köpeklerde enfeksiyon oluşturan bir parazittir. Zoonotik özelliğe sahip olduğu için insan sağlığını da tehdit etmektedir. Bu derleme ile bu parazitin larvalarının oluşturduğu visceral larva migrans hakkında bilgi vermek amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Köpek, Parazit, *Toxocara canis*, Visceral larva migrans, Zoonoz.

***TOXOCARA CANIS* AND VISCERAL LARVAE MIGRANS**

ABSTRACT. *Toxocara canis* is a parasite that infects dogs in many countries in the world, including Turkey. Since it has zoonotic properties, it also threatens human health. With this review, it is aimed to give knowledge about visceral larva migrans which is formed by the larvae of this parasite.

Keywords: Dog, Parasite, *Toxocara canis*, Visceral larvae migrans, Zoonosis.

Makale atfı

Kocademir, S ve Yıldız, K (2022). *Toxocara canis* ve visceral larva migrans, *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, 13 (1), 47-54. DOI: 10.38137/vftd.1084693

GİRİŞ

Toxocara canis, Ascaridoidea üst familyasında bağlı *Toxocara* cinsinde yer alan bir nematottur (Toparlak ve Tüzer, 2000). Türkiye’de dahil olmak üzere dünyanın pek çok ülkesinde köpeklerde farklı yollar kullanarak enfeksiyon oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra bu parazite ait larvalar insan sağlığını da tehdit etmektedir. Bu derleme ile *T. canis* ve bu parazitin larvalarının oluşturduğu visceral larva migrans hakkında bilgi vermek amaçlanmıştır.

Morfoloji

Erişkin *T. canis* beyaz-krem renkli, yaklaşık 10-18 cm uzunluktadır. Dişi parazit günlük olarak 200.000 civarında yumurta üretebilir (Nicoletti, 2013). Parazitin yumurtası 74-80 µm çaplı, kalın koruyucu tabakaya sahip kahverengi ve kenarı pürüzlü yapıdadır. Konak dokusunda göç eden enfektif dönem larva ise yaklaşık 300 µm uzunluktadır (Saari ve ark., 2019).

Epidemiyoloji

Yumurtada larva gelişimi 10°C’den yüksek çevre sıcaklığında başlar ve 15-25°C’de yaklaşık dört-yedi hafta içinde tamamlanır. Larva yumurta içinde 6-12 ay süreyle canlı kalabilir. Sıcak ve kuraklık yumurta üzerine olumsuz etkilidir, buna karşılık kar ya da dışkı tarafından korunduğu durumda düşük çevre sıcaklıklarında canlı kalabilir. Yumurta kabuğu yapışkan özellikte olduğundan nesnelere yapışarak uzun mesafelere taşınabilir (Pozio, 2015).

Yaşam çemberi

Köpek, tilki ve çeşitli karnivorlar parazitin biyolojisinde konak rolünü üstlenir. Erişkin parazitler konaklarının ince bağırsağına yerleşir (Öge, 2018). İnsanın yanı sıra fare, toprak solucanı, tavuk, koyun, domuz ve bazı kanatlı hayvanlar ise yaşam çemberinde paratenik konak olarak rol oynar (Saari ve ark., 2019). Paratenik konakların ya da bunlara ait dokuların köpek veya kediler tarafından yenilmesi ile edebulaşma gerçekleşir (Selek ve Baylan, 2013).

Parazit karmaşık bir yaşam çemberine sahiptir ve konağın vücudundaki gelişimi; konağın yaşı, cinsiyeti ve daha önceki enfeksiyonlardan kazanılmış bağışıklığa göre farklılık gösterir. Enfeksiyon, enfektif dönem larva taşıyan yumurtaların ağız yoluyla alınması ile başlar (Öge, 2018). Daha önceleri doğadaki *Toxocara* yumurtası içindeki enfektif dönem larvanın ikinci dönem larva olduğu ifade edilmiş olsa da bugün üçüncü dönem larva (L3)

olduğu belirlenmiştir (Schnieder ve ark., 2010). Köpeğin doudenumunda serbest kalan enfektif dönem larva bağırsak mukozasına girer. Bu girişin mekanizması tam olarak anlaşılamamış olsa da larvanın salgı ve boşaltım ürünlerinde bulunan elastaz benzeri bazı proteazların larvanın bağırsak mukozası, karaciğer ya da böbrek paranzimine ve kan damarı duvarına girişine yardımcı olduğu, ayrıca larvanın bu dokuları mekanik olarak da parçalandığı düşünülmektedir. Bağırsak duvarına giren larva lenfatik kanallar aracılığıyla mezenterik lenf düğümlerine gelir. Buradan venöz kapillar damarlar yoluyla portal dolaşıma girerek karaciğere ulaşır. Larvaların büyük kısmının enfeksiyonun ilk 24 saatinde konağın karaciğerine ulaştığı bildirilmiştir. Yaklaşık 12 saat içinde karaciğerden ayrılan larva Vena cava aracılığıyla kalbe ve buradan da pulmoner arter yoluyla akciğere ulaşır. Bazı larvalar karaciğerden başka dokuya göç etmez. Burada kapsülle çevrelenen larvalar, *T. canis* enfeksiyonunda karakteristik kabul edilen benek benzeri görünüm oluşturur (Schnieder ve ark., 2010; Öge, 2018). *Toxocara canis* larvasının köpekte göç rotasının belirlendiği organ akciğerdir. Buraya gelen larva ya erişkin hale gelmek için bağırsağa (patent enfeksiyon) ya da somatik dokulara yönelir (larva migrans). Patent enfeksiyon için alveollere giren larva bronşiol üzerinden trakeaya ulaşır. Larva yaklaşık 4-9 gün içinde trakea ve özefagusta görülebilir. Enfeksiyondan 7-15 gün sonra mide bağırsak sistemine ulaşan larva konakta iki gömlek değiştirir. Tam olarak bilinmese de ilk gömlek değişiminin (L4) mideden çıktıktan sonra ancak bronşiole girmeden önce olduğu farz edilir. Son gömlek değişimi ise ince bağırsaktadır. Deneysel enfekte yavru köpeklerde prepatent süre 4-5 haftadır, buna karşılık daha yaşlı köpeklerde bu süre 40-56 güne uzar. Erişkin askarit konakta ortalama 4 ay yaşar (Schnieder ve ark., 2010).

Köpekte larva göçüne etki eden faktörler

Köpekte larva göçüne etki eden faktörler arasında konağın yaşı ve daha önceki enfeksiyonlardan kazanılmış bağışıklığın etkisi olduğu bilinmektedir (Saari ve ark., 2019). Bu faktörlere bağlı olarak akciğerdeki larvalar iki farklı yol izler. Bu yollardan ilkinde; alveol duvarına giren larvalar bronşiol ve trakea aracılığıyla farinkse ilerler, yutularak bağırsağa ulaşır ve burada erişkin dişi ve erkeklere dönüşür. Diğer göç yolunda ise: alveol duvarına giren larvalar yeniden dolaşım sistemine

ulaşır ve böylelikle somatik dokulara gelir. Daha önce enfekte olmamış üç haftalık köpek yavrularında tüm larvaların trakeal göç yolunu tercih ettiğini, bu durumun aksine üç aylık ve bir yaşlı köpeklerde ise larvaların çoğunun dokularda granülom içinde olduğu bildirilmiştir. Köpeklerde üçüncü aydan itibaren somatik göçün arttığı, buna paralel olarak larvaların erişkine dönüşümünün de azaldığı belirlenmiştir. Bağışıklık sisteminin yaşla birlikte gelişmesinin ve kazanılmış bağışıklık şekillenmesinin bu duruma etkili olduğu düşünülmektedir (Schnieder ve ark., 2010; Öge, 2018).

Enfekte köpekte göç eden larvaların büyük kısmı iskelet kasları ve böbrekte bulunmakla birlikte larvalara karaciğer ve merkezi sinir sistemi organlarında da rastlanır. Köpekte beyin dokusunda genelde az sayıda larva bulunurken parazit biyolojisinde paratenik konak olarak görev yapan canlılarda beyin ve gözlerin larvadan etkilendiği bilinmektedir (Schnieder ve ark., 2010).

Larvanın göç yoluna konağın cinsiyeti de etkilidir. *Toxocara canis* enfeksiyonu aynı yaşta erkek köpekler için dişilerde daha sık görülür. Bu durum doğada parazitin canlı kalma stratejisi ile kısmen açıklanabilir. Dişi köpekler bu paraziti somatik doku larvaları ile yavrularına aktarabilir. Bununla birlikte parazitin bağırsaktaki yaygınlığına yönelik yapılan çalışmaların bir kısmında dişi ve erkek köpekler arasında herhangi bir fark görülmediği de ifade edilmiştir (Schnieder ve ark., 2010; Saari, 2019).

Prenatal Enfeksiyon

Köpeklerde *T. canis*'in en önemli bulaşma yolunun prenatal nakil olduğu kabul edilir, bu yol transplasental ya da intrauterin geçiş olarak da adlandırılır. Bu yolla enfeksiyon yalnızca annenin gebelik esnasında şekillenen enfeksiyonunu takiben görülmez aynı zamanda dişi köpeğin daha önceki enfeksiyonda şekillenen somatik larvaların reaktivasyonu yoluyla da olur. Dişi köpeğin dokularında larvanın ne kadar süre canlı kalabildiği tam olarak bilinmemekle birlikte anne köpeğin birbirini takip eden üç gebelikte fütusları larvalarla enfekte edebileceği belirlenmiştir. Somatik larvaların reaktivasyon zamanı ve fütusa göçe başladığı zaman hakkında net bilgi yoktur ancak gebeliğin 42. gününden önce fütusa ulaşmadığı ifade edilmektedir. Larvanın plasentaya dolaşım sistemi ile ulaştığı ve anne ile fütal kanı ayıran ince doku tabakasına penetre olduğunu ileri sürmüştür. Göbek kordonu; anne ile fütus arasında ana transfer noktası olarak kabul edilir

(Schnieder ve ark., 2010; Öge, 2018; Saari, 2019).

Fötusun karaciğerine gelen larvalar burada doğuma kadar kalır. Doğumu takiben göçe başlayan larvaların çoğu yaklaşık üç gün içinde akciğere ulaşır. Takibinde trakeal göçle doğum sonu yedinci günde bağırsağa ulaşır. Prenatal enfeksiyon şekillenen yavrularda farklı prepatent süreler bildirilmiştir (21-30 gün, 25-46 gün, 28 gün vb.) (Schnieder ve ark., 2010; Öge, 2018).

Laktojenik (galaktojen) Enfeksiyon

Köpeklerde *T. canis*'in bulaşmasında laktojenik yolun da önemi vardır. Süt yoluyla enfekte olan yavruda larvanın gelişimi hakkında az şey bilinmektedir, bu yolla alınan larvaların göç geçirmeden bağırsakta direkt geliştiği görüşü kabul görmektedir (Saari ve ark., 2019). Anne köpeğin sütüyle larva çıkışı laktasyonun ilk gününde başlar, larva sayısı artarak 7-14. gününde maksimum değere ulaşır. Doğumdan kısa süre önce ya da doğumdan sonra anne köpek enfekte olmuşsa larvanın sütle çıkışı 28 gün devam eder (Schnieder ve ark., 2010).

Paratenik konağın yenilmesi ile enfeksiyon

Parazitin biyolojisinde paratenik konak olarak rol oynayan bazı canlılara ait dokuların köpek tarafından yenilmesi ile de enfeksiyon şekillenir. Bu yolla alınan larvalar köpek vücudunda göç geçirmeden gelişimine devam eder ve prepatent süre iki hafta civarındadır (Saari ve ark., 2019).

Anne köpeğin enfeksiyonu

Anne köpekler doğumdan sonraki dönemde *T. canis* ile enfekte olabilir. Özellikle anne köpek yavrularının bakımını yaparken yavrunun dışkıyla çıkan L4'ü ağız yoluyla alır. Bu yolla enfekte olan anne köpeğin bağırsağında erişkin parazitler şekillenir. Enfekte annelerde daha önceki enfeksiyona bağlı gelişen bağışıklık reaksiyonu sadece 3.dönem *T. canis* larvasına karşı olduğundan, bu reaksiyon anne köpekte L4'ün enfeksiyon oluşturmaya engel olmaz. Bu şekilde enfekte olan anne köpeklerde prepatent süre yaklaşık 9-12 gündür. Anne köpeğin dışkısında doğumdan bir süre sonra parazit yumurtası görülmesinin diğer bir sebebinin de pseudoparazitizm olduğu ifade edilmektedir. Doğum sonrası dönemde yavruların bakımı esnasında yavrunun dışkısı ile çıkan yumurtaların anne köpeğin sindirim kanalına girebilir, bağırsaktan bozulmadan geçerek dışkıda tespit edilebilir (Schnieder ve ark., 2010). Ayrıca anne köpeklerde

gebelik ve doğum sonrası laktasyon döneminde azalan bağışıklık yanıtı, köpeğin dokularında bekleyen larvalar ile yeni alınan larvaların trakeal göç yapması ve takibinde bağırsağa gelerek erişkin hale gelmesine de olanak sağlar (Schnieder ve ark., 2010; Öge, 2019).

Bağışıklık

Köpekte *T. canis*'e karşı kazanılmış bağışıklık sadece 3. dönem larvaya karşı etkili olup bağışıklık reaksiyonu akciğer ve bağırsak dokusunda gelişir. (Schnieder ve ark., 2010). Akciğerde şekillenen gecikmiş tipte hipersensitivite reaksiyonu, *T. canis* ile re-enfeksiyonu takiben vücuda giren enfektif dönem larvaya karşı etki gösterir. Benzer şekilde bağırsakta şekillenen bağışıklık reaksiyonu da re-enfeksiyonu takiben enfektif dönem larvanın bağırsak mukozasına girişini engeller. Bu engelleme; duyarlı mastositler tarafından salınan vazoaktif aminlerin sebep olduğu yangısal alerjik reaksiyona bağlıdır ve böyle köpeklerde kataral hemorajik ishal şekillenir (Schnieder ve ark., 2010).

Helmint enfeksiyonları konakta hem hücresel hem de humoral immun yanıt gelişimini tetikleyerek enfeksiyon esnasında Th1 ve Th2 yanıt arasında hassas bir denge oluşmasına yol açar. Th1 yanıt parazitin yıkımlanmasından sorumluyken baskın olan Th-2 yanıt bazı interleukinlerin (IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 ve IL-13) artışını, IgE'nin salgılanmasını sağlar, eozinofil ve mast hücrelerinin aktivasyonun katıldığı patolojik değişikliklere sebep olur (Nicoletti, 2013). Dokulara göç eden *Toxocara* larvası burada bir kapsülle çevrelenerek yıkımlanabilir ya da dokuda uzun süre canlılığını koruyabilir. Konak dokularında göç eden ve uzun süre canlı kalan *T. canis* larvasının neden konağın bağışıklık sistemi tarafından uzaklaştırılmadığına dair bazı hipotezler ileri sürülmüştür. Bunlardan biri larvanın dokuda hipobiyoz safhasında kalması ve hipobiyotik larvanın bağışıklık sistemini uyaran antijen salınımının oldukça az olmasıdır. Diğeri ise *T. canis* larvasının konakta bağışıklık sistemini baskılaması ve böylelikle parazit antijenine karşı konak yanıtının ve spesifik antikor üretiminin azalmasıdır. *Toxocara canis* larvasının salgıladığı salgı ve boşaltım ürünleri larva yüzeyine tutunan konağa ait antikorların uzaklaşmasını sağlar. Bu durum konakta antikora bağlı şekillenen hücre adhezyon reaksiyonuna etkili biçimde engel olur (Schnieder ve ark., 2010).

Köpekte izlenen klinik ve patolojik değişiklikler

Enfekte köpeklerde bazı klinik belirtiler izlenebilir. Larvaların göçü esnasında konak dokularında hasar oluşur. Akciğere ulaşan larva öksürük ve dispne, bağırsağa geldiğinde ise orta düzeyde enteritis şekillendirebilir. Yoğun enfekte köpeklerde erişkin parazitler bağırsakta tıkanma ve yırtılmaya neden olur. Prenatal yolla çok sayıda larva alan yavruların çoğunda bağırsaktaki çok sayıda erişkin parazitin oluşturduğu basınç sonucunda davul-şeklinde karın görünümü izlenir. Bunun yanı sıra kaşeksi, büyümenin durması ve raşitik durum gibi genel bozukluklara yol açar. Karaciğerin tüm loplarda kırmızı ve beyaz odaklar ve peteşiler, akciğerde yeşil-beyaz ve kırmızı lezyonlar izlenir. Böbreğin tüm korteksi boyunca tipik beyaz lezyonlar dikkati çeker (Toparlık ve Tüzer, 2000; Schnieder ve ark., 2010; Öge, 2018).

Toxocara canis ile yoğun enfekte olan köpek yavrularında yapılan tam kan sayımında dolaşımdaki eritrosit sayısının azaldığı izlenmiştir, bu azalmanın sebebinin larvaların karaciğerde oluşturduğu travma ve erişkin parazitin sebep olduğu bağırsak perforasyonuna bağlı iç kanama olduğu düşünülür. Buna karşılık erişkin köpeklerde enfeksiyona bağlı olarak eritrosit sayısında değişiklik görülmez (Schnieder ve ark., 2010). Diğeri bir bulgu kanda eozinofil sayısındaki artıştır. Enfeksiyonun yedinci gününde kanda eozinofil sayısı artmaya başlar ve dışkıda parazit yumurtasının çıkışı ile birlikte seviyesi hafifçe düşer, enfeksiyonun 42. gününde fizyolojik sınıra iner (Schnieder ve ark., 2010). Enfekte köpeklerde larvanın karaciğer göçü esnasında kan serumunda glutamat dehidrogenaz (GLDH) ve alanin transaminaz (ALT) gibi bazı karaciğer enzimlerinde yükselme izlenir.

Teşhis

Köpekte toksokariasis teşhisinde; ölen yavruların nekropsisinde bağırsakta erişkin parazitler makroskopik olarak, dokularda göç eden larvalar ise histopatolojik olarak görülür (Toparlık ve Tüzer, 2000; Saari ve ark., 2019). Yavrularda karın şişkinliği, kusma, ishal, zayıflama varsa dışkı ile dışarı atılan parazitlerin bulunması tanıda yardımcı olur (Öge, 2018). Flotasyon yöntemi en etkili dışkı bakısıdır ve yumurtalar bu şekilde teşhis edilebilir. Köpek dışkısında parazit antijenini saptamaya yönelik bazı testler geliştirilmiştir (IDEXX, 2021).

Tedavi

Köpeklerde askarit enfeksiyonunun tedavisinde uygulanan pek çok ilaç seçeneği bulunmaktadır. Bağırsakta yaşayan erişkin *T. canis*; benzimidazol bileşikleri, pirantel, nitroskanat ve makrosiklik laktonlar içeren ilaçlarla tedavi edilebilir. Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri'nin (CDC) bu parazitin tedavisine dair tavsiyesi: "Askaridlerin yaygın olduğu bölgelerde yaşayan yavru köpek ve annelerin yaşlarına uygun ilaçlarla tedavi edilmesi"dir. Yavruların 2, 4, 6. haftalık olduğunda tedavi uygulanması ve takibinde yavru 6 aylık olana dek ayda bir olacak şekilde ilaç uygulamasının yapılması önerilir (Bowman 2014; Öge, 2018; Saari ve ark., 2019).

İki haftalık köpek yavrularında kullanımı onaylı tek anthelmintik pirantel pamoate'dır. Yavru köpekler piperazin bileşikleriyle de tedavi edilir (110 mg piperazin/kg canlı ağırlık). Ancak piperazin bileşiklerinin 6 haftalıktan küçük yavrular için kullanımı tavsiye edilmez. Febantel, praziquantel ve pyrantel pamoate kombinasyonu üç haftadan büyük ve yaklaşık bir kg'dan fazla canlı ağırlığa sahip köpek yavrularında, diğer bir ilaç olan milbemisim oksim ise dört haftadan büyük ve bir kg'dan ağır yavrularda uygulanması için ruhsatlandırılmıştır. Altı haftadan büyük köpek yavruları; fenbendazol veya pirantel pamoate ile tedavi edilebilir. Yedi haftalık yavrular; moksidektin ve imidaklopid ile topikal tedavi edilebilir. Sekiz haftalık yavrularda pirantel pamoate ve praziquantel verilebilir (Bowman, 2014).

Gebe köpeklere ivermektin uygulaması deneysel enfekte gebe dişilerden doğan yavrularda parazit sayısını azaltmıştır. Gebe dişilere 1 mg/kg dozda gebeliğin 20. ve 42. günde uygulanması ya da 0,5 mg/kg dozda gebeliğin 38, 41, 44, 47. günlerde uygulanması fötusa ulaşacak larva sayısını azaltmaktadır. Gebeliğin 40. ve 55. günlerinde %1'lik moksidektin 1mg/kg dozda olacak şekilde subkutan verilmesi etkili bulunmuştur (Bowman, 2014). Köpeklere gebeliğin 40. gününden başlayarak doğum sonu 14. güne kadar fenbendazol uygulamasının fötusa larva göçünü engellemede başarılı olduğu belirtilmiştir (Saari ve ark., 2019).

Toksokariasis

İnsanda toksokariasis

Visceral larva migrans ya da iç organ larva göçü; bazı nematod larvalarının çeşitli hayvan türleri ve insanın iç organ ve dokularında bulunması ile gelişen patolojik

bozukluklar olarak tanımlanmaktadır. İç organ larva göçü 1952'de eozinofili, hepatomegali, anemi ve solunum sistemi belirtileri gösteren üç yaşındaki çocukta ilk kez tespit edilmiştir (Nicoletti, 2013). *Baylisascaris procyonis*, *Capillaria hepatica*, *Ascaris sum* ve bazı *Ancylostoma* türlerinin yanı sıra günümüzde insanda bu sendroma sebep olan başlıca etkenlerin *T. canis* ve *Toxocara cati* (*T. cati*) olduğu görülmektedir (Nicoletti, 2013).

İnsan toksokariasisi; doğaya dışkılayan köpek ve kedi gibi canlıların dışkılarında bulunan ve içinde enfektif dönem larva gelişmiş *T. canis* ve *T. cati* yumurtalarının ağız yoluyla alınması ile ya da enfektif dönem larvaları dokularında barındıran paratenik konaklara (tavuk, kuzu ve tavşan vb) ait dokuların çiğ ya da az pişmiş yenilmesi sonucunda bulaşmaktadır (Seleke ve Baylan, 2013). Enfektif dönem larva taşıyan parazite ait yumurtaların ağız yoluyla alınması sonucunda üçüncü dönem larva insanların ince bağırsaklarda yumurtayı terk eder ve kan dolaşımına geçer. Larva öncelikle karaciğere, oradan diğer doku ve organlara gider. Bu larvalar paratenik konaklarda değişime uğramadan kalır ve kedi-köpekteki gibi tekrar bağırsağa dönüp erişkin parazit haline gelmez (Chen ve ark., 2018).

Köpek-kedi dışkısı ile kirlenmiş park veya oyun alanlarında oynayan çocukların enfektif dönem larva taşıyan askarit yumurtalarına maruz kalma riski daha fazladır. Bu çocuklarda mevcut toprak yeme, tırnak yeme veya çevredeki nesnelere ağıza götürme gibi bazı alışkanlıklar da bu enfeksiyona yakalanma riskini artırır (Taylan ve Özkan, 2020). İnsandaki toksokariasis çoğunlukla asemptomatik seyirlidir. Ancak vücuda giren larva sayısı ve konağın gösterdiği yangısal reaksiyona bağlı olarak şekillenen organ hasarı nedeniyle ciddi klinik tablo ile ilişkilendirilebilir (Pawlowski, 2001; Nicoletti, 2013). İnsandaki toksokariasis; visceral larva migrans, oküler toksokariasis, covert toksokariasis ve nörolojik toksokariasis olmak üzere dört farklı şekilde seyredebilir (Chen ve ark., 2018).

Visceral larva migrans

Visceral larva migrans, *Toxocara* spp. enfektif dönem larvalarının insanlarda hayati öneme sahip iç organlarında göç geçirmesi ile şekillenir (Nicoletti, 2013). Daha çok 2-7 yaş arası çocuklarda görülen bu patolojik tablo özellikle çok sayıda *T. canis* larvasının alınması ya da tekrarlanan enfeksiyona bağlı şekillenmektedir. Daha çok çocuklarda izlendiği bildirilse de Güney Kore, Japonya gibi ülkelerde

yaşayan yetişkin insanlardan da rapor edilmiştir (Lee ve ark., 2021). Bunun sebebi olarak çiğ sığır eti, kuzu, tavuk veya devekuşu karaciğerinin çiğ/az pişmiş yenilmesi gösterilmiştir. Visceral larva migranstan en çok etkilenen organ karaciğerdir. Enfektif dönem larvalar karaciğerde granümatöz lezyonlar ve hepatitis oluşturur. Karaciğer dışında kalp, akciğer, böbrek ve kaslar da etkilenir. Larva bu organlarda yangı oluşturarak miyokarditis, eozinofilik polimiyozitli miyalji, artrit ve nefritis şekillendirir. Enfekte insanlarda ayrıca döküntü, kaşıntı, egzama, pannikülitis, ürtiker ve vaskülitis gibi bazı dermatolojik değişiklikler de bildirilmiştir (Chen ve ark., 2018).

Okuler toksokariasis

Okuler toksokariasisde larva göçü konağın gözü ve optik sinir ile sınırlıdır. Genelde küçük yaştaki çocukların tek gözünü etkileyen bir sendromdur (Nicoletti, 2013). Enfekte insanda; kronik, tek gözü etkileyen üveitis ve eozinofilik granülom izlenir. Klinik olarak vitreusun matlaşması, retinokoroiditis, skleritis, kronik endoftalmis ve panüveitis dikkati çeker. Göz içinde canlı larva izlenebilir. Görme bozukluğunun seviyesi; larvanın konumuna, şekillenen eozinofilinin derecesine ve distorsiyon, heterotopi ve/veya makulanın dekolmanını tetikleyen fibrotik nitelikteki granümatöz yanıtın şiddetine bağlıdır (Chen ve ark., 2018).

Covert ve yaygın toksokariyazis

Covert ve yaygın toksokariyaziste nispeten daha hafif klinik belirtiler izlenir. Covert toksokariasis genelde çocuklarda, yaygın toksokariasis ise erişkin insanlarda görülür (Nicoletti, 2013). Toplumda bu parazit larvasının yaygınlığına yönelik araştırmalarda genelde seropozitif insanlar tespit edilmektedir. Bu insanlarda çoğunlukla herhangi bir klinik belirti yoktur ya da spesifik olmayan belirtiler izlenir (Nicoletti, 2013). Covert toksokariasis saptanan çocuklarda karın ağrısı, ateş, iştahsızlık, bulantı, baş ağrısı, kusma, farenjit, zatürree, öksürük, hırıltı ve servikal lenfadenitis gibi tipik olmayan bazı klinik belirtiler izlenir. Böyle insanların tam kan sayımında yüksek eozinofili ve kan serumlarında *Toxocara* spp. yönünden seropozitiflik izlenir (Nicoletti, 2013; Chen ve ark., 2018).

Nörotoksokariyazis

Toxocara spp. larvalarının insanın merkezi sinir sistemini oluşturan beyin ve omuriliğine göçü sonrasında şekillenir

(Nicoletti, 2013; Chen ve ark., 2018). Nörotoksokariyazis erişkin insanlarda daha sık görülür (Nicoletti, 2013). Hastalığın bu şekilde seyriinin sebebi olarak alınan larvalı yumurta sayısı, insanın parazitle önceden karşılaşması ve konağa ait bazı genetik faktörler sorumlu tutulmaktadır. Enfektif dönem *Toxocara* spp. larvalarının beyin ve omurilikte oluşturduğu hasar miyelitis, ensefalitis, mental konfüzyon ve/veya menenjit gibi bazı nörolojik belirtilere yol açar (Chen ve ark., 2018). Türkiye’de yapılan seroepidemiolojik çalışmalarda insanlarda toksokariasis seropozitifliğin %1-56 arasında değiştiği bildirilmiştir (Taylan ve Özkan, 2020). Seropozitiflik; erkeklerde, çocuklarda, kırsal kesimde yaşayanlarda, gelir düzeyi nispeten düşük kişilerde, köpek sahibi olanlarda, tırnak yeme veya toprak yeme alışkanlığı olanlarda daha yüksek oranda görüldüğü belirlenmiştir. Toksokariasis veteriner hekimler, çiftçiler ve pet-shopda çalışan insanlar için risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Taylan ve Özkan, 2020).

Hayvanlarda visceral larva migrans

Çeşitli hayvan türlerinde *T. canis* larvası visceral larva migrans şekillendirmektedir. Bu hayvan türlerinden bazıları toksokariasis yönünden yapılan deneysel çalışmalarda parazit-hayvan modeli oluşturmak amacıyla önemlidir (Holland ve Cox, 2001; Springer ve ark., 2019). Bunun dışında özellikle eti insanlar tarafından tüketilen çiftlik hayvanlarının parazit biyolojisi için paratenik konak olması ve dokularında enfektif dönem larva taşınması önem arz etmektedir. Bu çiftlik hayvanlarının dokularının çiğ/az pişmiş yenilmesi ile insanlar larvalar ile enfekte olabilmektedir (Choi ve ark., 2018).

Toksokariasis çalışmaları için konak-parazit modeli oluşturmada daha çok kemirgenler ve tavşan kullanılmaktadır. Bu hayvanlar ayrıca toksokariasisin potansiyel doğal paratenik rezervuarları olarak da kabul edilir. Köpekler doğada bu hayvanları kolayca yakalayıp yedikleri için, özellikle kemirgenler dünyanın farklı bölgelerinde köpeklere hastalığın bulaşmasında önemli rol oynar.

Larvalar enfeksiyondan yedi gün sonra farelerin kas ve beyin dokusuna ulaşır. Beyinde tercih ettiği kısım serebellumdur. Larva; beyin arterlerinin dallara ayrıldığı ve arter çapının nispeten azaldığı yerde dışarıya doğru çıkarak beyne ulaşır. Deneysel enfekte farede iki yıl sonra bile beyindeki larvaların canlı olduğu

görülmüştür. Enfekte farelerde herhangi bir nörolojik bulgu izlenemeyebilir, buna karşılık farelerin bazılarında hiperaktivite ve açık alanda saklanmama belirlenmiştir. Larvalar farede üç gün içinde göze ulaşabilir, gözün her iki kamarasına da yerleşebilir. Farede bir gözde dokuz civarında larva bulunabilir. Ayrıca larva kalp, böbrekler, omurilik, tükrük bezi, dalak ve uterusu da bulunmuştur. Farede parazit transplasental yolla nakledilir, laktojenik enfeksiyon da izlenmiştir (Wu ve Bowman, 2020).

Ratlardaki larvanın göç yolu faredekine benzer, kas ve beyin dokusuna 5 günde ulaşır. Faredekinin aksine ratın gözünde larvaya rastlanmamıştır. Enfekte ratlarda kafayı eğme ve hareketsizlik, kendini tımar etmede azalma, açık alanlardan daha az korkma gibi bazı davranış değişiklikleri şekillenir. Tavşanda larvaların çoğunluğu karaciğer, beyin ve kasta kapsülle çevrelenmiş halde ve canlı olarak bulunur. Enfeksiyonu takiben 6 gün sonra larva beyin ve kasa ulaşır (Wu ve Bowman, 2020).

Koyunda, larva migranstan en çok etkilenen organlar karaciğer ve akciğerdir. Larvanın koyun dokularındaki göçünün koyunun yaşı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Toklularda larva karaciğer dışında başka bir organa göç etmez, buna karşılık daha genç yaştaki kuzularda mezenterik lenf düğümleri, pankreas, kalp, akciğer, böbrek, beyin ve kaslarda enfeksiyondan sonraki 4. günde larvaya rastlanmıştır. Larvaların, toklu dokularında 12 hafta, kuzu dokularında ise 8 hafta canlı kalmıştır (Wu ve Bowman, 2020).

Keçilerde larva ile enfekte olur ve larva göçü diğer konaklardakine benzer. Larvanın enfeksiyonu takiben 6. günde keçinin beynine ulaştığı belirlenmiştir. Omuriliğe nispeten az sayıda larva ulaşırken kalp, dalak ve kasta larva bulunamamıştır (Wu ve Bowman, 2020). Buzağılar da larvalı yumurta ile enfekte olur. Larva, enfeksiyondan sonra 3 gün içinde karaciğer, akciğer ve mezenterik gelir. Yaklaşık 5. günde beyin dokusuna ulaşır. Sığırların kas dokusunda larvaya rastlanmamıştır (Wu ve Bowman, 2020).

Tavuklar *T. canis* larvası ile enfekte olur. Tavuk karaciğeri larvaların çoğunlukla bulunduğu yerdir. Karaciğer dışında az sayıda larvanın tavuğun böbrek, beyin, kalp, dalak, pankreas ve kas dokularında bulunduğu ifade edilmektedir. Tavuk dokularındaki larvaların çoğu canlı ve aktiftir. Fare ve tavuk dokularındaki *T. canis* larvaları farelere verildiğinde enfeksiyon oluşturmuştur. Ayrıca toprak solucanlarından da elde edilen larvalar da fare ve tavuk için enfeksiyöz niteliktedir (Wu ve Bowman, 2020).

SONUÇ

Toxocara canis köpekler için önemli bir parazittir. Parazitin zoonotik öneminden dolayı enfekte köpek, insan için toksokariasis bakımından enfeksiyon riski oluşturur. Özellikle el temizliğine dikkat edilmeyen ortamlarda paraziter enfeksiyonların çok sık görülebileceği ve farklı klinik tablolara yol açabileceği unutulmamalıdır. *Toxocara* enfeksiyonlarının da köpek ve kedilerin fazla olarak bulunduğu bütün bölgelerde görülebileceği göz ardı edilmemelidir. Özellikle altı aylıktan küçük köpeklere periyodik antihelmintik ilaç uygulanması ile enfeksiyon olasılığı azaltılmalıdır (Doğan ve ark., 2009).

KAYNAKLAR

- Bowman, D.D. (2014). *Georgis' Parasitology for Veterinarians*. 10th Edition. Elsevier Saunders, St Louis Missouri.
- Chen, J., Liu, Q., Liu, G. H., Zheng, W. B., Hong, S. J., Sugiyama, H., Zhu, X. Q. & Elsheikha, H. M. (2018). Toxocariasis: a silent threat with a progressive public health impact. *Infectious Diseases of Poverty*, 7, 59. doi: 10.1186/s40249-018-0437-0.
- Choi, D., Lim, J. H., Choi, D. C., Paik, S. W., Kim, S. H. & Huh, S. (2008). Toxocariasis and ingestion of raw cow liver in patients with eosinophilia. *The Korean Journal of Parasitology*, 46, 139–143.
- Freeman, L. M., Chandler, M. L., Hamper, B. A. & Weeth, L. P. (2013). Current knowledge about the risks and benefits of raw meat-based diets for dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 243, 1549–1558.
- Habluetzel, A., Traldi, G., Ruggieri, S., Attili, A. R., Scuppa, P., Marchetti, R., Menghini, G. & Esposito, F. (2003). An estimation of *Toxocara canis* prevalence in dogs, environmental egg contamination and risk of human infection in the Marche region of Italy. *Veterinary Parasitology*, 113, 243–252.
- Holland, C. V. & Cox, D. M. (2001). *Toxocara* in the mouse: a model for parasite-altered host behaviour?. *Journal of Helminthology*, 75, 125–135.
- IDEXX (2021). Fecal Dx antigen testing Erişim Adresi: (<https://www.idexx.com/en/veterinary/reference-laboratories/fecal-dx-antigen-test/fecal-study>). Erişim Tarihi: 25.12.2021.
- Karaca, I., Menteş, J. & Nalçacı, S. (2018). *Toxocara* neuroretinitis associated with raw meat consumption. *Turkish Journal of Ophthalmology*, 48, 258–261.
- Lee, K. T., Min, H. K., Chung, P. R. & Chang, J. K. (1976). Studies on the inducing possibility of human visceral larva migrans associated with eating habit of raw liver of domestic animals.

- The Korean Journal of Parasitology, 14, 51–60.
- Montalvo, A. M., Espino, A. M., Escalante, G. & Finlay, C. M. (1994). Estudio de seroprevalencia de toxocariasis en una población infantil de Ciudad de La Habana [Study of the seroprevalence of toxocariasis in an infantile population in the City of Havana]. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 46, 156–158.
- Nicoletti, A., Sofia, V., Mantella, A., Vitale, G., Contrafatto, D., Sorbello, V., Biondi, R., Preux, P. M., Garcia, H. H., Zappia, M. & Bartoloni, A. (2008). Epilepsy and toxocariasis: a case-control study in Italy. *Epilepsia*, 49, 594–599.
- Nicoletti, A. Toxocariasis. In: Garcia, H. H., Tanowitz, H. B. & Del Brutto, O. H. (2013). *Editors Handbook of Clinical Neurology, Volume. 114 (3rd series) Neuroparasitology and Tropical Neurology*. Elsevier.
- Öge, S. (2018). Ascaridoidea. In: Doğanay, A. Editor. *Helmintoloji*. Ankara Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara; 2018. Sayfa: 248-274.
- Park, H. Y., Lee, S. U., Huh, S., Kong, Y. & Magnaval, J. F. (2002). A seroepidemiological survey for toxocariasis in apparently healthy residents in Gangwon-do, Korea. *The Korean Journal of Parasitology*, 40, 113–117.
- Park, J. E., Oh, M. J., Oh, D. H., Oh, I. M., Yoo, K. H., Im, S. G. & Ghil, H. K. (2012). A case of toxocariasis with visceral larva migrans combined with ocular larva migrans. *Korean Journal of Medicine*, 83, 543-549.
- Pozio E. (2015). Foodborne nematodes. In: Gajadhar, A. *Foodborne Parasites in the Food Supply Web*. First Edition, Woodhead Publishing, Amsterdam.
- Rostami, A., Sepidarkish, M., Ma, G., Wang, T., Ebrahimi, M., Fakhri, Y., Mirjalali, H., Hofmann, A., Macpherson, C., Hotez, P. J. & Gasser, R. B. (2020). Global prevalence of *Toxocara* infection in cats. *Advances in Parasitology*, 109, 615–639.
- Saari, S., Nareaho, A. & Nikander, S. (2018). *Canine parasites and parasitic diseases*. Academic Press.
- Schnieder, T., Laabs, E. M. & Welz, C. (2011). Larval development of *Toxocara canis* in dogs. *Veterinary Parasitology*, 175, 193–206.
- Selek, M. B. & Baylan, O. (2013). İnsan toksokariyazı. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 70, 113-134.
- Springer, A., Heuer, L., Janecek-Erfurth, E., Beineke, A. & Strube, C. (2019). Histopathological characterization of *Toxocara canis*- and *T. cati*-induced neurotoxocarosis in the mouse model. *Parasitology Research*, 118, 2591–2600.
- Stensvold, C. R., Skov, J., Møller, L. N., Jensen, P. M., Kapel, C. M., Petersen, E. & Nielsen, H. V. (2009). Seroprevalence of human toxocariasis in Denmark. *Clinical and Vaccine Immunology*, 16, 1372–1373.
- Taylan-Özkan, A. (2020). Sources and seroprevalence of toxocariasis in Turkey. Bowman, D. Editor, *Toxocara and Toxocariasis*. 1st Edition, Academic Press; 2020. Sayfa 466-479.
- Toparlak M, Tüzer E. (2000). *Veteriner Helmintoloji*. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları.
- Wu, T. & Bowman, D. D. (2020). Visceral larval migrans of *Toxocara canis* and *Toxocara cati* in non-canid and non-felid hosts. *Advances in Parasitology*, 109, 63-88.



Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni

Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association

e-ISSN: 2667-8381

Hikmet Özgün İŞCAN ^{1a}
Abdurrahman AKSOY ^{1b}

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Farmakoloji ve Toksikolojisi A.D.,
Samsun

ORCID^a: 0000-0002-5786-9247
ORCID^b: 0000-0001-9486-312X

*Sorumlu Yazar: Hikmet Özgün İŞCAN
E-Posta: hikmetozgun.iscan@omu.edu.tr

Geliş Tarihi: 22.02.2022
Kabul Tarihi: 27.04.2022

13 (1): 55-69, 2022
DOI: 10.38137/vftd.1077324

VETERİNER FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ'DE META-ANALİZ, SİSTEMATİK DERLEME VE HIZLI DERLEME

ÖZET. Etkili veteriner klinik uygulamaları için kanıta dayalı karar aşaması en önemli unsurlardandır. Veteriner hekimliğinde kanıta dayalı uygulamalar, insan hekimliğindeki araştırmalardan köken almıştır. İnsan sağlığındaki kanıta dayalı tıp ise klinik deneyimler, klinik durumlara ilişkin tedavi kararı alma aşamasında kullanılan bilimsel kanıtlara dayanır. Bilimsel kanıtlar araştırmaların sonuçlarından elde edilerek ortaya konan veriler olup, dahil etme ve hariç tutma ile geliştirme kriterleri araştırmanın niteliğine göre farklılık gösterebilmektedir. Klinik denemeler ise farklı olarak, hedef popülasyonun bir örneklemini üzerinde gerçekleştirilir. Bu sebeple tek bir çalışmayı temel almak yerine birden fazla çalışmanın sentezini yaparak değerlendirmek ve sonuca ulaşmak daha uygun olacaktır. Kanıtların sentezi birden fazla kaynağın elde ettiği sonuçların birleştirilmesi ile gerçekleştirilir. Kanıt sentezi için araştırma soruları ve verilerin sentezini içeren çok sayıda yöntem bulunmaktadır. Uzun yıllardır beşerî hekimlikte başarıyla uygulanan araştırmalarda kanıta dayalı karar aşaması üzerine çalışmalar veteriner hekimliği açısından yeterli değildir. Özellikle Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji açısından ise konu ile ilgili çok az yayın mevcuttur. Bu derlemede sentez yöntemlerinden; meta-analiz, sistematik derleme, hızlı derleme yöntemleri ve tanımlamaları özetlenerek, araştırmacıların ileride konu ile ilgili yapacağı araştırmalar için temel oluşturması hedeflenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Hızlı derleme, Meta-analiz, Sistematik derleme, Veteriner meta-analiz.

META-ANALYSIS, SYSTEMATIC REVIEW AND RAPID REVIEW IN VETERINARY PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY

ABSTRACT. One of the most critical aspects of good veterinary clinical practice is evidence-based decision-making. Evidence-based veterinary medicine is based on human medical research. Evidence-based medicine is based on scientific data used in clinical experience and treatment decision-making for clinical diseases in human health. Scientific evidence is data derived from study results, and the criteria for inclusion, exclusion and development may vary depending on the research's nature. On the other hand, clinical studies involve a subset of the target population. As a result, rather than basing the outcome on a single study, it would be more acceptable to examine multiple studies by synthesizing them and reaching a conclusion. The process of synthesizing evidence requires merging data from multiple sources. Research questions and data synthesis are just two examples of evidence synthesis methodologies. In studies that have been successfully applied in human medicine for many years, evidence-based decision-making studies are insufficient for veterinary medicine. There are few papers on the issue, especially in Veterinary Pharmacology and Toxicology area. The methodologies of synthesis, meta-analysis, systematic review, rapid review methods, and definitions are summarized in this review, aiming to adopt an approach for future research on the subject by researchers.

Keywords: Meta-analysis, Rapid review, Systematic review, Veterinary meta-analysis.

Makale atfı

İşcan, H.Ö ve Aksoy, A (2022). Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji'de Meta-Analiz, Sistematik Derleme ve Hızlı Derleme, Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni, 13 (1), 55-69. DOI: 10.38137/vftd.1077324

GİRİŞ

Bilimsel kanıtlar araştırma sonuçlarından elde edilerek ortaya konan verilerdir. Araştırmalara bakıldığında dahil etme ve hariç tutma ile geliştirme kriterleri farklılık göstermekte ve bunun yanında klinik denemeler hedef popülasyonun bir örneklemini üzerinde gerçekleştirilmektedir (Sackett ve ark., 1996; Lau ve ark., 1998; Masic ve ark., 2008; Trikalinos ve ark., 2008). Bu sebeple tek bir çalışmayı temel almak yerine birden fazla çalışmanın sentezini yaparak sonuca ulaşmak daha uygun ve doğru olacaktır. Kanıtların sentezi birden fazla kaynağın elde ettiği sonuçların birleştirilmesi ile gerçekleştirilir. Kanıt sentezi için araştırma sorularının ve verilerin sentezini içeren çok sayıda yöntem bulunmaktadır. Bu derlemede bahsi geçen sentez yöntemlerinden günümüzde en çok kullanılan üçü incelenmiştir; meta-analiz, sistematik derleme, hızlı derleme (Sargeant ve O'Connor, 2020).

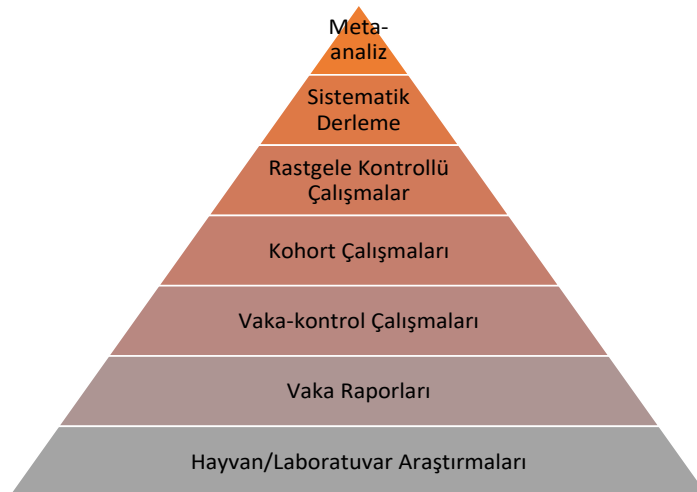
META-ANALİZ

“Meta-analiz” terimi ilk olarak Gene Glass tarafından 1976 yılında ortaya atılmıştır (Şen, 2019). Meta-analitik yöntemler yazarların istatistiksel anlamlılık ve alaka düzeyi hakkında bilgi elde etmek için çalışmalar geneline sonuçların nicel olarak değerlendirmesi ve sentezlenmesine izin verir (Mikolajewicz ve Komarova, 2019). Bilimsel çalışmalarda teori ve pratik arasındaki boşluk, sıklıkla eleştirilen bir durumdur. Bu ikisi arasındaki bağlantıyı kurmak için gerekli olan kanıtlar, bir alanda daha önce yapılmış çalışmaların sentezinin meta-analizi yoluyla sunulur (Şen, 2019). Meta-analiz, çeşitli çalışmalardan elde edilen verilerin nicel sentezidir. Popülasyon temelli çalışmalardan, genetikteki genom çapında yapılan

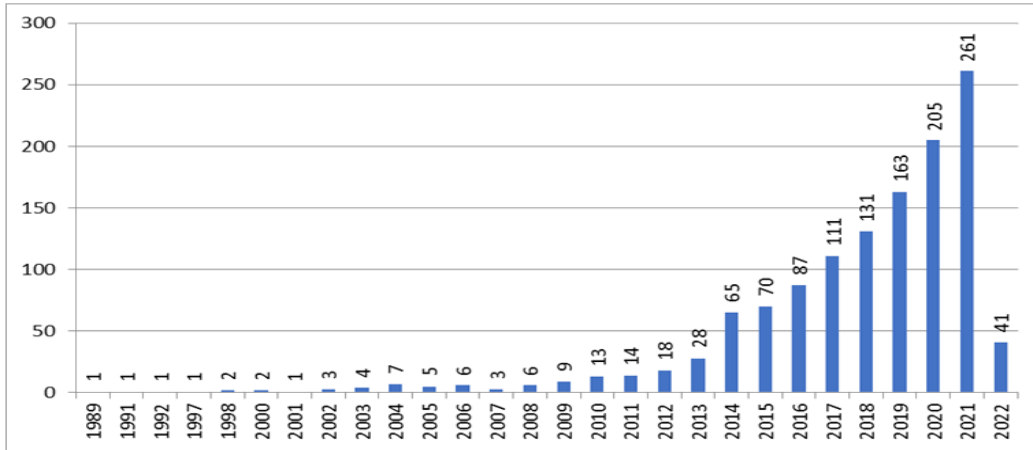
taramalara kadar çeşitli noktalarda kullanılabilen bir istatistiksel analiz yöntemidir (Trikalinos ve ark., 2008). Diğer bir deyişle meta-analiz: belirli bir konu üzerine yapılmış olan birden fazla çalışmanın sonucunu tek bir analizde toplamak için kullanılan özel bir istatistiksel strateji olarak tanımlanabilir (Green, 2005). Birden fazla çalışmadan elde edilen kanıtların birleştirilmesiyle, istatistiksel güç artırılmış olur ve bu sayede araştırmacılar araştırdıkları konuyla ilgili en düşük varyanslı, güvenilir ve geçerli olan parametreleri tahmin edebilmektedir. Meta-analiz, çalışmalar arası heterojenliğin; yani çeşitli çalışmalardaki metodolojik, epidemiyolojik, klinik, biyolojik ve analitik farklılığın ortaya konması ve değerlendirilmesi için olanak sağlar (Trikalinos ve ark., 2008). Yıllardır süregelen çalışma tasarımlarının sistematik derleme üzerinden değerlendirilme sebebi bu iki farklı yöntemin vereceği sonuç ve yapılacak olan çalışma arasındaki bağlantı varlığına dayandırılabilir. Meta-analiz sonucunda:

- Çalışmaların etki büyüklüğü nedir?
- Çalışmaların toplamı sıfır hipotezini reddediyor mu?
- Çalışmalar arası varyans ne kadar ve bu varyansı neler etkiliyor?
- Bazı çalışmaların yayınlanması veya yayınlanmamasından kaynaklanan bir yanlılık söz konusu mu?
- Bulunan sonucu değiştirecek yeterli sayıda basılmamış çalışma bulunmakta mıdır?

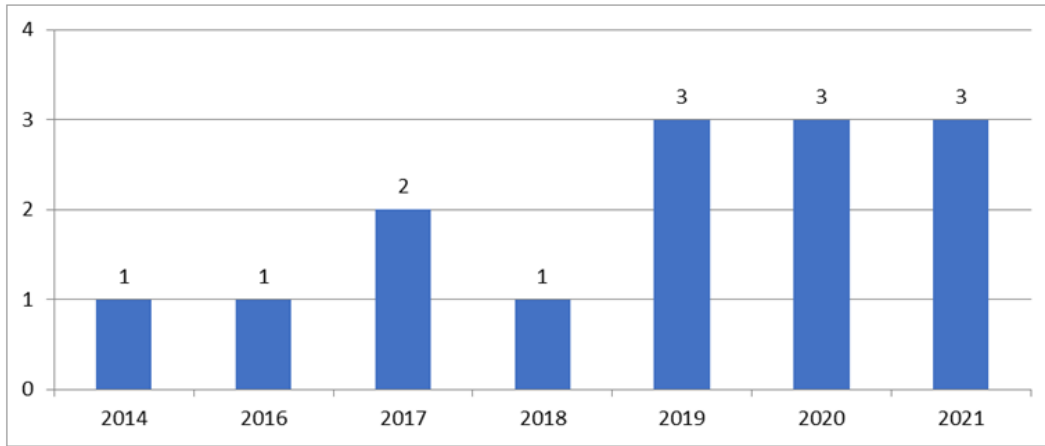
Sorularına cevap alınabilir. Meta-analiz, bu sorulara cevap vererek tek bir çalışmaya göre daha doğru bir sonuç ortaya koymasının yanında tek bir çalışmada görülemeyecek olan çalışmalar arası farklılığın



Şekil 1. Kanıtların Hiyerarşisi (Haidich, 2010).



Şekil 2. Veteriner Hekimliği Alanında Meta-Analiz Üzerine Yapılan Çalışmaların Yıllara Göre dağılımı (“meta-analysis in veterinary medicine” anahtar kelimeleri ile yapılan Pubmed arama sonuçları) (Pubmed, 2022a).



Şekil 3. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Alanında Meta-Analiz Üzerine Yapılan Çalışmaların Yıllara Dağılımı (“meta analysis in veterinary pharmacology and toxicology” anahtar kelimeleri ile yapılan Pubmed arama sonuçlarına göre hazırlanmıştır) (Pubmed, 2022b).

yorumlanmasına da katkı sağlamış olur (Şen, 2019).

Kanıtı dayalı tıp; tıbbi bilgilerin elde edilmesi ve kullanılmasına yönelik sistematik, nicel, tercihen deneysel bir yaklaşım olarak tanımlanabilir. Bu nedenle, birkaç bağımsız çalışmanın sonuçlarını birleştiren istatistiksel bir prosedür olan meta-analiz, kanıtı dayalı tıpta merkezi bir rol oynamaktadır (Haidich, 2010) (Şekil 1).

Pubmed veri tabanı üzerinden “meta-analysis in veterinary medicine” ve “meta -analysis veterinary pharmacology and toxicology” kelimeleri kullanılarak elde edilmiş verilerle oluşturulan şekiller (Şekil 2, Şekil 3) incelendiğinde veteriner hekimliği, özellikle de veteriner farmakoloji ve toksikoloji alanında meta-analizi içeren çalışmaların azlığı dikkat çekmektedir.

TEMEL META-ANALİZ KAVRAM VE PARAMETRELERİ

İlk olarak farklı çalışmalardan elde edilen bulguları birleştirme işlemi bu çalışmaların korelasyon katsayılarının özetlenmesi (Pearson, 1904), P değerlerinin birleştirilmesi (Tippet, 1931) ve bağımsız çalışmalardan ortaya konulan aritmetik ortalamaların ortalamasını almaya (Cochran, 1954) dayalı olarak gerçekleştirilmiştir. Glass ise bu değerler yerine etki büyüklüğü (effect size) değerini kullanmayı önermiştir (Glass, 1977).

Etki Büyüklüğü (Effect Size)

Etki büyüklüğü, bir testte deney grubu ortalamasından kontrol grubu ortalamasını çıkarıp standart sapmaya bölerek elde edilen katsayıdır. Bu katsayı, deney grubuna

uygulanan yöntemin ne kadar etkili olduğu hakkında bir fikir verir. Sürekli veriler (ortalamalar gibi) için genellikle standartlaştırılmış ortalamalar farkına dayanan etki büyüklüğü kullanılır (Normand, 1999). Etki büyüklüğü birimsiz bir ölçü olup, uygulanan deneyin etkisinin yönünü ve büyüklüğünü gösterir (Durlak ve Lipsey, 1991).

Etki büyüklüğünün belirlenmesinde üç ana husus önem arz eder. Birincisi, farklı çalışmalardan elde edilen etki büyüklüklerinin, aynı ölçüm değeri (en azından yaklaşık olarak) açısından birbirleriyle karşılaştırılabilir olması gerektiğidir. Yani etki büyüklüğü, çalışmadan çalışmaya değişebilen etkenlere bağlı olmamalıdır (örnek boyutu veya ortak değişkenlerin kullanılıp kullanılmadığı gibi). İkinci olarak, etki büyüklüğü tahminlerinin, yayımlanmış araştırma raporlarında rapor edilmiş bilgilerden hesaplanabilir olması gerektiğidir. Yani, ham verilerin yeniden analizini gerektirmemelidir (bunların mevcut olduğu bilinmedikçe). Üçüncüsü, etki büyüklüğünün hesaplanabilmesi için araştırmacının örneklem verileri hakkında yeterli bilgiye sahip olması gerektiğidir. Örneğin, varyansların ve güven aralıklarının hesaplanabilmesi için örnekleme dağılımı bilinmelidir (Borenstein ve ark., 2021).

Heterojenlik ve Heterojenlik Ölçüleri

Meta analize dahil edilen bireysel çalışmalar arasındaki değişkenlik heterojenlik olarak tanımlanmaktadır. İstatistiksel, klinik ve metodolojik olarak üç kategoride ele alınmaktadır. İstatistiksel heterojenlik, bireysel çalışmalardaki etki büyüklüklerindeki değişkenlikle alakalıdır. Klinik heterojenlik (klinik farklılık), deneklere, yapılan müdahaleye ve çalışmada yer alan sonuç değişkeninin çeşitliliğine bağlı olarak bireysel çalışmalardaki klinik farklılık olarak ifade edilmektedir. Son olarak da metodolojik heterojenlik, çalışmanın kalitesine, süresine ve çalışmada kullanılan istatistiksel yöntemlerin farklılığına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (Xu ve ark., 2008; Higgins ve Green, 2011).

META-ANALİZ MODELLERİ

Sabit Etki Modeli (*Fixed Effect Model*)

Bu modele göre meta-analiz uygulanan tüm çalışmalarda ortak bir etki büyüklüğü söz konusudur. Çalışmalar arasındaki etki büyüklükleri farkı rastlantıdan ibarettir. Sabit etki modelinde analize alınan tüm çalışmaların etki büyüklüklerinin eşit olduğu kabul edilir. Yaygın olan üç

sabit etki modeli: Ters varyans, Mantel-Haenszel ve Peto yöntemleridir (Israel ve Richter, 2011).

Ters Varyans: Bir miktarın başka bir miktardaki değişikliklerle doğru orantılı olarak değiştiği doğrudan varyasyonun aksine, ters varyasyon durumunda, ilk miktar başka bir miktara göre ters olarak değişir (Deeks ve ark., 2001).

Mantel-Haenszel: Veriler hem olay oranlarının düşük olması hem de deneme gruplarının küçük olması açısından seyrek olduğunda, ters varyans yöntemlerinde kullanılan tedavi sonuçlarının standart hatalarına ilişkin tahminler zayıf olabilir. *Mantel-Haenszel* yöntemleri alternatif bir ağırlıklandırma şeması kullanır ve veriler seyrek olduğunda daha doğru sonuç verdiği Deeks ve ark. (2001) tarafından ilgili çalışmada bahsedilmiştir ve bu nedenle ters varyans yerine tercih edilebilmektedir. Yalnızca ikili sonuçlar için kullanılabilirler (Deeks ve ark., 2001).

Peto: *Peto*, *Mantel-Haenszel* yöntemine alternatif bir olasılık oranı (odds rate) yöntemidir. *Peto*'nun yöntemi (Yusuf, 1985) sadece havuzlanmış olasılık oranlarını birleştirmek için kullanılabilir. Ters bir varyans yaklaşımı barındırır, ancak günlük olasılık oranını tahmin etmek için yaklaşık bir yöntem kullanır. *Peto* yöntemini ortaya koymanın alternatif bir yolu, O ve E istatistiklerinin toplamıdır. Burada O, gözlemlenen olay sayısıdır ve E, her çalışmanın deneysel müdahale grubundaki beklenen olay sayısıdır. Müdahalenin etkileri küçük olduğunda (olasılık oranları bire yakın olduğunda), olayların özellikle yaygın olmadığı ve çalışmaların deney ve kontrol gruplarında benzer sayılara sahip olduğu durumlarda, logaritmik olasılık oranlarının hesaplanmasında iyi sonuçlar verdiğinden bahsedilmektedir. *Peto*'nun yönteminin dayandığı yaklaşımın, tedavinin etkileri çok büyük olduğunda başarısız olduğu görülmüştür (Higgins, 2011).

Rastgele Etki Modeli (*Random Effect Model*)

Bu modele göre, çalışmalardaki etki büyüklükleri farklı dağılım göstermekte ve dolayısıyla tek bir değere dayanmamaktadır. Bu dağılımdan dolayı etki büyüklüğü pozitif veya negatif olabilir. Rastgele etkiler modeli gerçek etki büyüklüğünün dağılımını gösterdiğinden, gerçek etki büyüklüğü çalışmalar arası varyanstan kaynaklanan bir hata payı eklenerek hesaplanır. Rastgele etkiler modelinin

kullanıldığı yaygın bir etki büyüklüğü hesaplama yöntemi *DerSimonian ve Laird* yöntemidir (Israel ve Richter, 2011).

DerSimonian-Laird (1986) yöntemi rasgele etkili modele dayanmaktadır. Özet odds (olasılık) oranı (olasılık) oranı;

$$OR_{dl} = \frac{\sum_{i=1}^k (W_i^* x \ln OR_i)}{\sum_{i=1}^k W_i^*}$$

ile hesaplanır.

OR_{dl} ; odds oranının DerSimonian-Laird özet kestirimi,

W_i^* ; çalışmanın DerSimonian-Laird ağırlık faktörü ve

OR_i ; ise, çalışmanın odds oranıdır (Yıldız ve Tez, 2009).

Yayın Yanlılığı

İstatistiksel çalışmalarda seçim yanlılığı sorunu, çalışmada temel alınan popülasyonu örneklemek için basit rastgele örnekleme yöntemi dışında bir yöntem kullanıldığında ortaya çıkar (Heckman, 1990). Bir meta-analiz çalışması, matematiksel olarak araştırmaya dâhil edilen çalışmaların doğru bir sentezini sunmasına rağmen eğer bu çalışma, üzerinde çalışılan araştırmaların yanlı bir sunumunu yapıyorsa, elde edilen ortalama etki büyüklüğü de bu yanlılığı yansıtacaktır. Çok sayıda bulgu, geniş etki büyüklüğüne sahip çalışmaların küçük etki büyüklüğüne sahip olanlardan daha çok yayımlandığını göstermektedir. Literatürde, yayınlanmış çalışmaların meta-analize dâhil edilmesi daha çok tercih edildiğinden, bu çalışmalardaki muhtemel yanlılıklar da meta-analize yansır. Bu sorun genel olarak “yayın yanlılığı” diye adlandırılmaktadır (Rosenthal ve DiMatteo, 2001; Card, 2012). Meta-analiz çalışmalarındaki muhtemel yayın yanlılığının teşhis edilip düzeltilmesi için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Orman grafiği, huni grafiği, Rosenthal’ın güvenli N sayısı, Orwin’in güvenli N sayısı, Egger’in doğrusal regresyon yöntemi ile Duval ve Tweedie’nin çıkar-ekle yöntemi başlıca yanlılık belirleme yöntemleridir (Bakioğlu ve Gökaş, 2018).

META-ANALİZ UYGULAMA AŞAMALARI

Tüm meta-analitik incelemeler, aşağıdaki sırayla özetlenen benzer bir iş akışını öngörür (Lee, 2018; Mikolajewicz ve Komarova, 2019):

A. Araştırma sorusunu formüle etme:

- Birincil ve ikincil hedefleri belirleme
- Sorunun genişliğini belirleme

B. Literatür araştırması:

- Arama stratejisi oluşturmak: Hızlı veya sistematik arama
- İnceleme çalışmaları yapma ve uygunluğunu belirleme

C. İnceleme testi yapma ve uygunluğunu belirleme:

- İlgili çalışmalardan veri çıkarma
- İlgili çalışma düzeyinde özellikleri ve deneysel değişkenleri toplama

- Çalışmaların kalitesini değerlendirme
- Karmaşık ilişkiler için model parametrelerini tahmin etme (isteğe bağlı)

D. Veri değerlendirme ve hazırlama:

- Uygun sonuç ölçüsünü hesaplama
- Çalışmalar arası tutarsızlığın (heterojenlik) kapsamını değerlendirme
- İlgili veri dönüşümlerini gerçekleştirme
- Meta-analitik modeli seçme

E. Çalışma düzeyindeki verileri özet ölçüme sentezleme:

- Verileri toplama, özet ölçüm ve güven aralığını hesaplama

F. Keşif analizleri

- Potansiyel heterojenlik kaynaklarını keşfetme (ör. Biyolojik veya deneysel)
- Alt grup ve meta-regresyon analizleri

G. Bilgi Sentezi

- Bulguları yorumlama
- Gelecekteki çalışmalar için öneriler sağlama

META-ANALİZ ÇALIŞMALARINDA RAPORLAMA

Meta-analiz çalışmalarının nasıl rapor edileceği hakkında birçok protokol geliştirilmiştir. Meta-analizi yapan araştırmacı makalede nasıl raporlaması gerektiğine bu protokollere bakarak karar verebilir. Bu protokoller meta-analizlerin raporlanmasını standartlaştırmak için geliştirilmiştir. *Quality of Reports of Meta-analysis [QUOROM]*, *Observational Studies in Epidemiology [MOOSE]*, *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses [PRISMA]*, *APA Manual* (Şen, 2019).

META-ANALİZ KULLANIM ALANLARI

Meta-analiz, birçok nicel çalışmaya uygulanabilir: Kontrollü klinik çalışmalar, yarı deneyler, gözlemsel çalışmalar (kohort, vaka-kontrol çalışmaları). Çoğu meta-analitik çalışma nedensel ilişkileri açıklamayı amaçlayan çalışmalarla ilgilenmesine rağmen, nedensel olmayan ilişki çalışmaları, tanımlayıcı araştırmalar, tarama çalışmaları, teşhis yöntemlerinin geçerlilik ve güvenilirlik çalışmaları, maliyet-etkinlik çalışmaları ve diğerkonulara da meta-analiz uygulanabilir (Akgöz ve Ercan, 2004).

Örnek meta-analiz uygulaması

Meta-analizin kullanımlarına örnek verilecek olursa; bir araştırmada kadınlarda doğurganlığı artırmak, adet görme veya kürtaşı teşvik etmek, gebelik ve doğumu kolaylaştırmak, adet kanamasını ve doğum sonrası kanamayı azaltmak, adet sırasındaki veya doğum ve doğum sonrası ağrıyı hafifletmek amacıyla kadın sağlığında tedavi amacıyla kullanılan ve özel olarak belirtilen tüm bitki kullanımları için bir inceleme yapılmıştır. Bu çalışmanın ön araştırmalarına göre 2000'e yakın farklı bitki türünün 5000'den fazla kombinasyonda kullanıldığı bildirilmiş ve çalışmada Güneydoğu Asya'da geleneksel kadın sağlığı hizmetlerinde kullanımları için 200 farklı makalede toplam 1875 farklı bitki türü incelemesinin meta-analitik değerlendirmesi yoluyla yeni ilaçların keşfine ışık tutmak amaçlanmıştır. Çalışmadaki meta-analiz aşamaları incelenecek olursa: İlk olarak yazar tarafından yukarıda belirtilen kadın sağlığı sorunlarında kullanılan bitkiler belirlenmiştir. Daha sonra Güneydoğu Asya ve çevresinden, genel olarak tıbbi bitkiler hakkında mevcut olan tüm orijinal araştırma yayınlarından ve ayrıca kadın sağlığında özel kullanımları için belirtilenlerden 1886-2012 yılları arasında bulunanlar literatür taramasına tabi tutulmuştur. Belirtilen amaçlarla kullanılan 1875 bitki türünün, 211 familya ve 980 cinse ait olduğu görölmüş ve tür kullanım raporlarının toplam sayısı 5423 olarak bulunmuştur. Çalışmada tür kullanım raporları (bir belgede belirli bir kullanım için belirtilen her bir türün, örneğin S türünün R yayınında U rahatsızlığını tedavi etmek için kullanıldığından bahsedildiği için) tanımlanmıştır. Daha sonra bu belirlenen türlerden yaygın olarak 20 tanesinin kullanıldığı görölmüş ve kullanıldığı coğrafi bölgelere göre bir harita çıkarılmıştır. Elde edilen veriler yoluyla farklı bölgelerdeki farklı örneklemlerde aynı veya benzer rahatsızlıklar için aynı tür bitkilerin kullanımını gösteren sonuçlar ortaya konmuştur (De Boer ve Cotington, 2014).

META-ANALİZDE KULLANILAN BAZI BİLGİSAYAR PROGRAMLARI

Meta-DiSc, İşpanya'da bir grup istatistikçi tarafından teşhis ve tarama testlerinin meta-analizini gerçekleştirmek için geliştirilmiş ücretsiz bir yazılımdır. Daha önce grubun web sitesinden açık kaynak olarak indirilebilen yazılım (Meta-DiSc 1.4) günümüzde siteden kaldırılmış olmasına rağmen internette arama yapıldığında halen bulunabilmektedir (Meta-Disc Version 1.4, 2022) Yeni sürümü ise (Meta-DiSc 2.0) geliştirilme aşamasındadır. Meta-DiSc, açılır menüler, iletişim kutuları kullanım kolaylığı sağlayan bir kılavuz ve uygulanan istatistiksel yöntemleri açıklayan çevrimiçi yardım dosyaları içeren kullanıcı dostu bir ara yüze sahiptir. Meta-DiSc, duyarlılıkların, özgülüklerin, olasılık oranlarının (LR'ler), tanısals olasılık oranlarının (DOR) ve ayrıca ROC düzlem dağılım grafiklerinin elde edilmesini sağlar. Sabit efekt modeli (*Mantel-Haenszel* yöntemi) ve rastgele efekt modeli (*DerSimonian Laird* yöntemi) kullanılarak; duyarlılık, özgülük, LR'ler ve DOR için istatistiksel bir havuz oluşturulur. Meta-DiSc, sROC eğrisini Littenberg ve Moses modeline uygun hale getirebilmesinin yanında AUC (eğri altındaki alan) ve Q indeksini tahmin edebilmektedir. Bu temel analizlerin yanı sıra, Meta-DiSc ayrıca heterojenliğin (Ki-kare, Cochran-Q ve I-kare) ve meta-regresyonun araştırılmasına da izin verir. Tüm bu özelliklerinin yanında Meta-DiSc bazı istatistiksel eksikliklere de sahiptir (Zamora ve ark., 2006).

RevMan 5, sistematik incelemelerin hazırlanması yanı sıra meta-analiz oluşturmak için de kullanılabilen bir Cochrane yazılımı olup, Cochrane web sitesinden ücretsiz olarak indirilebilmektedir (RevMan Version 5, 2022). RevMan; karşılaştırma tabloları ile çalışma verilerinin girişi ve yönetimi, girilen verilerin meta analizi ve sonuçların grafiksel sunumu dahil olmak üzere sistematik incelemelerdeki tüm prosedürleri kolaylaştırmak için tasarlanmıştır. *Cochrane* tarafından RevMan için çok detaylı bir kullanım kılavuzu sağlanmasına rağmen çoğu araştırmacı RevMan'ın pek kullanıcı dostu olmadığını düşünmektedir. Bunun sebeplerinden biri RevMan'ın teşhis doğruluğu çalışmaları için yalnızca sınırlı analizler sağlamasıdır. Duyarlılık ve özgülük, yalnızca araştırma ve sunum amacıyla "*forest plot*" (Forest Plot: Bir meta-analizin sonuçlarını görüntülemek için kullanılan tipik grafiğe denir. Her çalışmanın etki büyüklüğu, güven aralığı, özet sonuç bu grafik yoluyla rapor edilir) yoluyla ayrı ayrı belirtilirken, özet noktaları veya heterojenlik önlemleri

bu uygulama yoluyla sağlanamamaktadır. Uygulamada heterojenlik, araştırmaların tabakalı analizi ve alt grup başına ayrı ölçülen ROC eğrileri ile değerlendirilir, ancak alt gruplar arasında doğruluğun önemli ölçüde farklı olup olmadığını belirlemek için hiçbir resmi değer (örneğin, P değeri) hesaplanamamaktadır.

•Çalışmalar büyüklüklerine, yıllara vb. göre gruplanabilir.

•Okuyucuya çalışmaların heterojenitesi hakkında bilgi verir: Güven aralıkları örtüşmüyorsa büyük değişkenlik söz konusudur, bu sebeple meta-analiz uygun olmayabilir (NCCTC, 2014).

Stata, biyotıp, epidemiyoloji, ekonomi, sosyoloji ve siyaset bilimi alanlarında yaygın olarak kullanılan istatistiksel bir paket programdır. Ancak Stata lisanslı bir ticari programdır. Stata, “Hızlı, Doğru, Kullanımı Kolay” entegre bir yazılım paketi olarak kabul edilmektedir. Hem bir komut satırı arayüzüne hem de tüm yerleşik komutlar için menülere ve iletişim kutularına sahiptir. Bu sayede Stata, doğrudan Stata’ya yüklenebilen (“ssc install name_ command”) veya internetten indirilebilen (ado dosyaları) komutların yanında kullanıcı tarafından yazılan komutlara da izin verir. Stata’da, ikili tanı testinin meta-analizi için bazı çağdaş istatistiksel yöntemleri uygulayan, kullanıcı tarafından yazılmış iki komut vardır; midas ve metandi (StataCorp, 2017; Stata Version 17, 2022).

SAS, önceki adı olan “İstatistiksel Analiz Sistemi” nin kısaltmasıdır. SAS programının akademik ve ticari olmayan kullanımlar için ücretsiz bir sürümü de mevcuttur. SAS, kullanıcılar için geniş veri analiz araçları yelpazesi sağlar, ancak kullanımı ve öğrenmesi tecrübe istediğinden, uzman kullanıcıların tercihi olarak kabul edilir (Green, 2005).

R, istatistiksel analiz için ücretsiz bir yazılım ortamıdır ve istatistikçiler arasındaki en popüler araçlardan biridir. R, tüm dünyada CRAN’dan (Kapsamlı R Arşiv Ağı) ücretsiz olarak indirilebilmektedir. CRAN’da da bulunabilen veya doğrudan R’den yüklenen veri meta-analizini kolaylaştırabilen birkaç R paketi vardır ancak, R pek kullanıcı dostu değildir. Komut satırı girişi, yeni başlayanlar için oldukça zor olabilmektedir. R için bazı grafik kullanıcı arayüzleri (örneğin; RStudio) yardımcı olabilir, ancak yine de bu tıklama yoluyla kullanılabilen yani menüye sahip yazılımlar kadar kullanışlı olmamasına sebep olmaktadır. Çoğu R paketi, paketteki tüm işlevler için örneklerle birlikte ayrıntılı açıklamalar sağlar. R’nin en önemli avantajlarından biri, yeni yöntemlerin

kullanıcı tarafından yazılan R paketlerinde çok hızlı bir şekilde uygulanabilmesidir. R’in dezavantajı ise, mevcut yöntemlerin ve paketlerin çevrimiçi olmadan önce geniş çapta tartışılmamış veya doğrulanmamış olabileceği gerçeğidir. Birkaç analiz paketi örneği verilecek olursa DATA, meta-analiz çalışmaları için; Mada veya Baysesian yaklaşımını kullanan paketler (HSROC, bamdit, meta4diag), özel durumlar için DiagMeta gibi paketler de dahil olmak üzere R için birçok paket geliştirilmiştir (Wang ve Leeflang, 2019) (Çizelge 1).

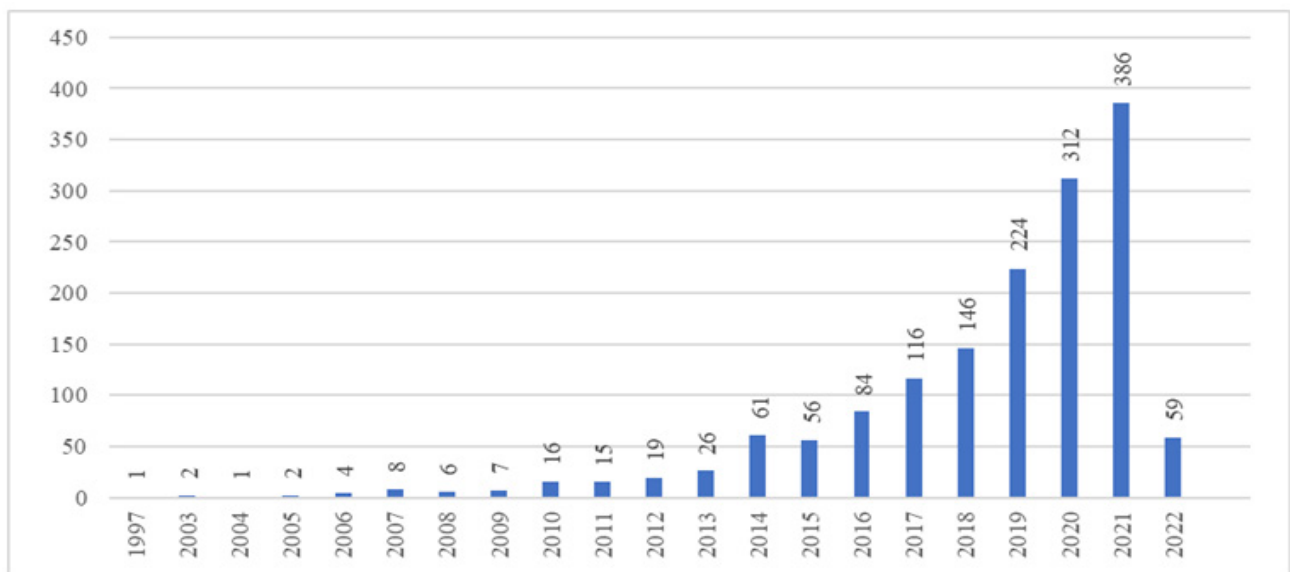
SİSTEMATİK DERLEME

Sistemik derleme klinik bir soruya yanıt ya da probleme çözüm bulmak amacıyla, o alanda yayınlanmış tüm araştırmaların kapsamlı bir biçimde taranıp çeşitli dahil etme ve hariç tutma kriterleri kullanarak ve araştırmaların kalitesini değerlendirerek hangi araştırmaların derlemeye dahil edileceğinin belirlenmesi ve bu dahil edilen araştırmalardaki bulguların sentez edilmesidir (Shuster, 2011; Hyland, 2012). Sistemik bir inceleme, araştırma konularının sonuçlarını değerlendirmek ve özetlemek için kullanılabilen bilimsel bir araçtır. Sistemik incelemeler aynı zamanda genel bakış (overview) olarak da adlandırılır. Gözden geçirme (review) iki veya daha fazla yayının belirli bir konudaki sonuçlarını sentezlemeye yönelik tüm girişimler için genel bir terim iken, genel bakış (overview) ise belirli bir konuyla ilgili tüm literatür kapsamlı bir şekilde değerlendirmeye tabi tutulduğunda kullanılan bir terimdir (genel bakış “sistemik literatür taraması” olarak da adlandırılır) (Sackett ve ark., 1996). Sistemik derlemeler, ayrı ayrı yürütülen ve bazen birbiriyle çelişen bulgular içeren, bir dizi çalışmayı bir araya getirmede ve sonuçlarını sentezlemede özel bir değer taşır. Bu amaçla, sistemik incelemeler, çalışmaların yeterince benzer olup olmadığına bağlı olarak kantitatif bir sonuç almak amacıyla meta-analiz adı verilen istatistiksel bir sentezi içerebilir (Meta-analiz yoluyla sonuçları birleştirmek anlamlı olabilir) (Green, 2005). Sistemik derlemeler, yazarların tanımlanmış bir konuyla ilgili tüm ilgili çalışmalarını değerlendirerek tek bir sonuçta sunmasını imkân veren kapsamlı arama stratejilerini içerir (DeLuca ve ark., 2008).

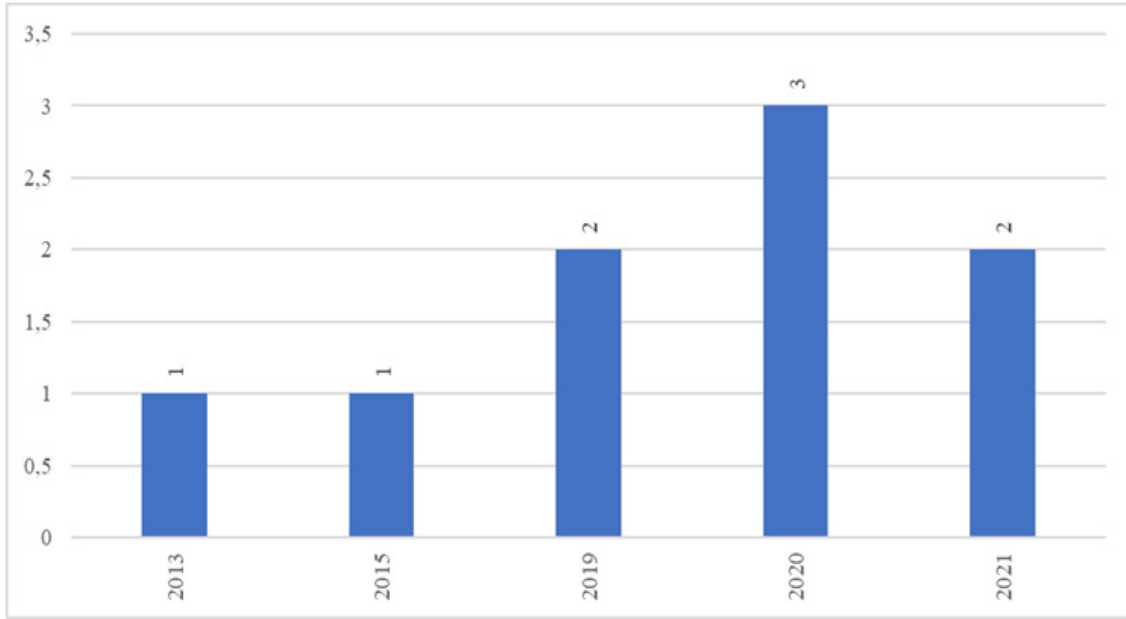
Sistemik derlemeleri temelde meta-analizden ayıran durum, meta-analizin araştırmaların araştırması olarak tanımlanmasıdır.

Değerler	Meta-DiSc (Version 1.4)	RevMan (5)	Stata (Version 17)	SAS (Viya)	R (Version 4.2.0)	MIX (Version 2.0)	CMA (Version 3)	Meta-Analyst
Erişilebilirlik	1	3	2	2	3			
Kullanım kolaylığı	3	2	3	2	2			
Meta-analiz için gerekli özellikler ve metodoloji	1	2	3	3	3			
Ücret		Ücretsiz	\$785		Ücretsiz	Ücretsiz	\$1,295	Ücretsiz
Uyumluluk		Windows, Mac, Linux	Windows, Mac, Linux		Windows, Mac, Linux	Windows	Windows	Windows
Sonuç formatı		RevMan	RTF		RTF	MS Excel	RTF, PowerPoint	PDF, RTF, image files
Meta-regression		Mevcut Değil	Mevcut		Mevcut	Mevcut Değil	Mevcut	Mevcut
Tekli grup		Mevcut	Mevcut		Mevcut	Mevcut	Mevcut	Mevcut
Karışık etkiler		Mevcut	Mevcut		Mevcut	Mevcut	Mevcut	Mevcut
Çoklu modeller		Mevcut Değil	Mevcut		Mevcut	Mevcut Değil	Mevcut Değil	Mevcut
Kümülatif meta-analiz		Mevcut Değil	Mevcut		Mevcut	Mevcut	Mevcut	Mevcut

Çizelge 1. Meta-analiz Yazılımlarının Karşılaştırılması (1: iyi, 2: orta, 3: kötü) (Wallace ve ark., 2009; Wang ve Leeflang, 2019). İlgili program linkleri (CMA Version 3, 2022; StataCorp, L. 2017; Meta-Disc Version 1.4, 2022; MIX Version 2.0, 2022; PRISMA, 2022; R Version 4.2.0, (2022); RevMan Version 5, 2022; SAS Viya, 2022; Stata Version 17, 2022).



Şekil 4. Veteriner Hekimliği Alanında Yıllara Göre Yapılan Sistemik Derleme Sayısı ("systematic review in veterinary medicine" anahtar kelimeleri ile yapılan Pubmed arama sonuçlarına göre) (Pubmed, 2022c).



Şekil 5. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Alanında Yıllara Göre Sistemik Derleme Çalışma Sayıları Sütun Grafiği ("systematic review in veterinary pharmacology and toxicology" anahtar kelimeleri ile yapılan Pubmed arama sonuçlarına göre) (Pubmed, 2022d).

SİSTEMATİK DERLEME UYGULAMA AŞAMALARI

Herhangi bir sistematik incelemenin içermesi gereken aşamalar ve bilgilerle ilgili birkaç özellik belirlenebilir. Genel olarak, sistematik bir inceleme aşağıdaki adımları içerir (Grant, 2009; Hansen ve Trifkovic, 2013; Lockwood ve Oh, 2017):

- A. İnceleme sorularını formüle etme
 - B. Ayrıntılı dahil etme ve hariç tutma kriterlerini belirleme (Kriterler genellikle soru yapısına dayanır)
 - C. İlgili tüm çalışmaları belirlemek için kapsamlı bir araştırma yapma (Yayınlanmış ve yayınlanmamış literatür taraması)
 - D. Dahil edilen çalışmaları kritiği
- Dahil edilen araştırma çalışmalarından elde edilen verilerin analizi
- E. Bulguların sunumu
 - F. Tartışma
 - G. Mevcut en iyi kanıtı raporlama

Diğer araştırma sentez biçimlerinden farklı olarak sistematik derlemeler, araştırma sonuçlarının düzenlenmesi ve sistematik hale getirilmesi için titiz bir protokole (standart bir aşamalar kümesi) dayanır. Bu nedenle, sistematik bir incelemeyi tanımlamak için ilk kriter, inceleme sürecinin tekrarlanabilmesini

garanti eden bir araştırma protokolünün varlığıdır. İkinci kriter, sistematik bir incelemeye dahil edilecek birincil araştırmanın, taranması ve seçilmesinde; elektronik veya basılı kaynaklar yanında, yayınlanmamış materyalleri de içerecek kadar kapsamlı olmasıdır. Amaç, anekdot niteliğindeki kanıtlara güvenmekten ve olumlu vakaların 'özenle seçilmesinden' kaçınmaktır. Diğer bir değişle yanlı seçimden kaçınmak sistematik derleme için önem arz eder. Üçüncü kriter; sistematik bir incelemede birincil (köken) araştırmanın dahil edilmesine yönelik açık kriterler oluşturulmalıdır. Birincil araştırmanın kalitesi çalışmanın şekillendirilmesinde belirleyici bir rol oynar. Bu araştırmanın yalnızca konu açısından değil, aynı zamanda gerçekleştirildiği titizlik ve başarı açısından da derlemeye uygun olması gerekir. Dördüncüsü; sistematik bir gözden geçirmenin birincil araştırmanın bir analizini içermesi gerekir. Analiz, nicel (en yaygın olarak meta-analiz) veya nitel (örneğin, tematik sentez) olabilir. Beşinci olarak ise, sistematik bir gözden geçirme, birincil araştırmada yer alan bilgilerin bir sentezini içermelidir. Bu nedenle, sistematik bir gözden geçirme, birincil araştırma bulgularının basit özetinin ötesine geçmelidir. Sentez faaliyetlerinin örnekleri şunları içerir: belirli bir tedavinin etkisinin büyüklüğünü değerlendirmek, belirli bir sonucun nedenlerini değerlendirmek, farklı çalışmalar arasındaki tutarlılığı değerlendirmek ve birincil verilerin

kalitesini değerlendirmek. Temel bulguları sunmanın yanı sıra, sistematik bir gözden geçirme, çalışmalarındaki farklı sonuçların nedenlerini ve mevcut çalışmanın sınırlarını belirlemelidir (Hansen ve Trifkovic, 2013).

Bu adımlar ile ortaya çıkarılan sonuçların sunulmasında bilginin doğru şekilde aktarılması amacıyla tartışma bölümünün çeşitli kriterleri içermesi gerekir.

Tartışma bölümü için kontrol listesi şunlardan oluşmaktadır;

- Sistematik derlemenin ana bulguları,
- Sistematik derlemenin güçlü ve zayıf yönleri,
- Kanıtın güçlü ve zayıf yönleri,
- Bulguların mevcut kanıtlar çerçevesinde tartışılması,
- Bulguların uygulanabilirliği,
- Bulguların uygulamaya ve kliniğe dâhil edilmesi,
- Daha sonraki araştırmalar için öneriler,
- Sonuçlar; yalnızca bu sistematik derlemenin ortaya çıkardığı kanıta dayalı olmalıdır (Karaçam, 2013).

Sistematik incelemeler, akademik çevrelerde çok geniş olarak kullanılmaktadır (Şekil 4, Şekil 5). Bunun yanı sıra karar alıcılar ve uygulayıcılar gibi araştırmanın akademik olmayan kullanıcıları karar verme sürecini etkileyebilmek için sıklıkla görevlendirilirler. Cochrane Collaboration¹ ise, kullanıcı katılımına vurgu yaparak yazarları, tüketiciler ve klinisyenler gibi kullanıcıların görüşlerini dahil etmeye teşvik etmektedir (Shuster, 2011). Cochrane incelemeleri, basılı dergilerde yayınlanan sistematik incelemelere göre daha büyük metodolojik titizlik içermesi ve daha sık güncellemeler içermesi nedeniyle daha çok tercih edilmektedir (Jadad ve ark., 1998). Farklı kuruluşlar sistematik incelemeler yürütürken, farklı incelemelerin güvenilirliği ile ilgili sorular sıklıkla ortaya çıkar. Bu durumu açıklamak için örnek verilecek olursa, ilaç denemelerinin endüstri tarafından finanse edilen incelemeleri, daha az şeffaf olduklarından ve karşılık gelen Cochrane incelemelerine göre daha olumlu sonuçlara sahip olduklarından, kararlara rehberlik etme açısından güvenilirlikleri sınırlı görülmektedir (Milo ve ark., 2010). Ancak yalnızca endüstri tarafından finanse edilen incelemeler değil, aynı zamanda hakemli dergilerde yayınlanan incelemeler de ciddi metodolojik kusurlar barındırabilmektedir (Jadad ve ark., 1998).

RAPORLAMA

Uluslararası literatürde, sistematik derleme ve meta-analiz araştırmalarının sunumunun (araştırma raporunun yazımı) PRISMA Bildirimi kontrol listesine (PRISMA Statement: Checklist of items to include when reporting a systematic review or meta-analysis) göre yapılması önerilmektedir (PRISMA, 2022). PRISMA Bildirimi'nin amacı sistematik derleme ve meta-analiz araştırmalarının sunumunu şekillendirmede yazarlara yardım etmektir. Ayrıca PRISMA Bildirimi yayınlanan sistematik derleme ve meta-analiz araştırmalarının eleştirel değerlendirilmesi için de kullanılabilir (Moher ve ark., 2009). Bu kontrol listesinin sistematik derleme hazırlamanın ilk aşamasından itibaren dikkate alınması, özellikle araştırma metodolojisinin gerekliliklerini yerine getirmede çok daha doğru bir yaklaşım olacaktır (Karaçam, 2013).

Sistematik derlemelerin yazılışına bir örnek verilecek olursa Takooree ve ark. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada *Piper nigrum*'un (karabiber), biyolojik özellikleri kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. *P. nigrum*'un geleneksel kullanımları, fitokimyasal bileşimi ve farmakolojik özellikleri hakkındaki bilimsel verileri sistematik olarak gözden geçirilmeye çalışılmıştır. Çalışmada hem tıp hem de veteriner hekimliği için çoğunlukla insanlarda adet görme ve kulak-burun-boğaz bozuklukları ile hayvanlardaki mide-bağırsak bozukluklarında kullanımı açısından en fazla geleneksel *P. nigrum* raporuna sahip ülke olarak, Hindistan temel alınmıştır. *P. nigrum* ve biyoaktif bileşiklerinin önemli farmakolojik özelliklere sahip olduğunun keşfedildiğinden bahsedilmektedir (antimikrobiyal aktivite, biyofilm, bakteriyel akış pompaları [efflux pump], bakteri sürünme ve yüzme motilitelerinin inhibisyonu). Antioksidan enzimlerin *in vivo* gelişimi de ilgili çalışmada raporlanmıştır. *P. nigrum*'un ayrıca sitotoksisite, apoptoz, otofaji ve sinyal yollarına müdahale dahil olmak üzere farklı mekanizmalar yoluyla meme, kolon, servikal ve prostattan bir dizi hücre hattına karşı antikanserijen etki gösterdiğinden bahsedilmiştir. Antidiyabetik özelliği, kolesterol, trigliseritler ve düşük yoğunluklu lipoprotein seviyesindeki azalma ve yüksek yoğunluklu lipoprotein'deki artış ile kanıtlanmasının yanı sıra *in vivo* olarak da doğrulanmıştır. *P. nigrum*'un tüm bunların yanında anti-inflamatuar, analjezik, antikonvülsan ve nöroprotektif

¹ Cochrane, sağlık uzmanlarını, hastaları ve politika yapıcıları içeren sağlık müdahaleleri hakkında kanıta dayalı seçimleri kolaylaştırmak için tıbbi araştırma bulguları düzenlemek üzere kurulmuş bir İngiliz uluslararası yardım kuruluşudur.

etkilere de sahip olduğu belirtilmiştir. Makaleye göre *P. nigrum*'da tanımlanan başlıca biyoaktif bileşik piperindir, ancak piperik asit, piperlonguminin, pellitorin, piperolein B, piperamid, piperettin ve (-)-kusunokinin gibi biyolojik etki gösteren başka bileşikler de mevcuttur. Araştırılan makalelerde farmakolojik çalışmaların çoğu *in vitro* (n = 60) yürütülürken, yalnızca 21 *in vivo* ve 1 klinik çalışma gerçekleştirildiği görülmüştür. Bu nedenle, farmakokinetik ve farmakodinamik bir yaklaşım kullanan daha fazla *in vivo* deney faydalı olacaktır. Bu çalışmanın sonucunda kesin bir açıklama olarak, *P. nigrum* yalnızca "baharatların kralı" olarak görülmemeli, aynı zamanda potansiyel nutrasötik ve farmasötik uygulamalara sahip bir dizi biyoaktif bileşik içeren tıbbi ajanlar krallığının bir parçası olarak da düşünülmelidir görüşü belirtilmiştir (Takooree ve ark., 2019).

HIZLI DERLEME

Hızlı derlemeler için (*rapid review*) resmi bir tanım yoktur. Bu nedenle, aşağıdaki çalışma tanımı kullanılır. Hızlı bir derleme, kısa bir süre içinde bilgi üretmek için sistematik derleme sürecinin bileşenlerinin basitleştirildiği veya ihmal edildiği bir analiz yöntemidir (Tricco ve ark., 2015). Hızlı derlemeler, standart sistematik derlemelere göre karar verme için daha az zaman ve bu sebeple de daha az bilgi sağlayabilen bir kanıt sentezi biçimidir. Hızlı derleme yöntemleri büyük ölçüde değişiklik gösterir ve genellikle beş haftadan daha kısa sürede yapılır. Genellikle karar alıcıların kanıtları sentezlemek için gerekli süre daha kısa olduğundan sistematik bir inceleme pratik olmayacaktır. Hızlı derleme, sistematik derlemenin aşamalarını atlayarak yani daha az titiz davranarak sistematik derleme sürecini hızlandırır. Hızlı derlemeler, yeni ortaya çıkan araştırma konuları, önceki incelemelerin güncellemeleri, kritik konular, bazı sistematik inceleme yöntemlerini kullanarak bir politika veya uygulama hakkında zaten bilinenleri değerlendirme gibi çalışmalarda kullanılmaktadır (Jadad ve ark., 1998).

HIZLI DERLEME UYGULAMA AŞAMALARI

- Tanımlama yapma
- Dahil etme hariç tutma kriterleri belirleme
- Tarama kriterleri belirleme
- Veri öğeleri ve veri soyutlama süreci
- Tanımlayıcı sonuçları sentezleme
- Zaman aralığı: ≤ 5 hafta (Tricco ve ark., 2015).

Hızlı derlemelerde yaygın olarak kullanılan kısayollar şunlardır:

- Arama kriterlerini daraltma,
- Tarih kısıtlamaları getirme,
- Gözden geçirmeyi tek bir araştırmacıyla yürütme,
- Uzman danışmanlığını ihmal etme (yani, arama stratejisi geliştirme için kütüphaneci),
- Dil kriterlerini daraltma (Örn. sadece İngilizce veya Türkçe),
- Arama ve arama terimi seçiminin yinelemeli sürecinden önce, kalite kontrol listesi kriterlerinin çıkarılması,
- Aranan veri tabanlarının sınırlandırılması (Ganann ve ark., 2010).

Bu kısa yollar, aramadan elde edilen ilk araştırma havuzunu sınırlandıracak, böylece seçim sürecini hızlandıracaktır, ancak aynı zamanda potansiyel olarak ilgili olabilecek çalışmaların dışlanmasına ve bu sebeple de seçim önyargısının ortaya çıkmasına neden olacaktır. Hızlı incelemelerin kaliteden ödün vermediği veya yanlış temsil edici sonuçları sentezlemediği konusunda fikir birliği varken (Haby, 2016), yine de kritik sonuçların daha sonra sistematik incelemeyle doğrulanması tavsiye edilmektedir (Ganann ve ark., 2010).

Hızlı derlemelerin zamandan kazanç sağlama amacı taşıdığı belirtilmişti. Bir çalışma örneği verilecek olursa; etizolam, GABAA reseptörlerinin benzodiazepin bölgesi için yüksek afiniteye sahip bir tienodiazepin türevidir. Genellikle yenibir psikoaktif madde veya bir 'sokak benzodiazepin'i (ana amacı dışında bağımlılık yapıcı madde olarak kullanıldığı) olarak anılır. Tıbbi olmayan kullanım raporları, uyuşturucuya bağlı ölümlerde etizolamın bir bileşen olarak tesbit edilmesi etizolamın daha iyi anlaşılmasına olan ihtiyacı vurgulamaktadır. İlgili çalışmada aşağıda belirtilen iki araştırma sorusunu yanıtlamak ve etizolam hakkında bilinenleri tek bir çalışmada birleştirmek için PubMed ve Google Scholar kullanılarak hızlı bir inceleme yapılmıştır: (i) Etizolamın farmakolojik veya toksikolojik profili diğer benzodiazepinlerden farklı mıdır? ve (ii) Etizolamın tıbbi olmayan kullanımı ile zararlarının doğası ve bağlamı nedir? Etizolam, diazepam ile karşılaştırıldığında anksiyolitik olarak daha yüksek bir potansiyele, ancak daha düşük öldürücülüğe sahiptir. Etizolam kullanımı sonrasında meydana gelen zararlar, ağırlıklı olarak, yasadışı olarak üretilen tabletlerin kullanımıyla ilişkili görülmeyle birlikte

neredeysen yalnızca, karışık ilaç toksisitesi bağlamında ortaya çıkmaktadır. Terapötik dozlarda, etizolamin diğer benzodiazepinlerden daha zararlı olduğunu gösteren çok az kanıt vardır. Etizolamin çoğu zararının, bilinmeyen dozlarda alınan ve diğer maddelerle birleştirilen yasadışı olarak üretilmiş hapların geniş kullanılabilirliği ile ilişkili olduğu görülmektedir. Opioidler ve benzodiazepinlerle birleştirmekten kaçınmayı da içeren mevcut zararlarından koruma tavsiyesi, tıbbi olmayan kullanım kültürünün ortaya çıkması ile ilgili olarak giderek daha da önem kazanmaya devam etmektedir (Nielsen ve McAuley, 2020).

Tüm bu değerlendirmelere bakılacak olursa sağlık bilimlerinde ve diğer bilimlerde yapılacak bir çalışmanın sunulması için kullanılacak yöntemin seçimi çalışmanın içeriği, süresi ve buna ilave edilecek birçok kriter değerlendirilerek yapılmalıdır. Bu üç derleme şeklinin amacı ve içerdiği aşamalar açısından farklılıklar barındırmaktadır. Bunlara ilaveten bu üç derlemenin yazılış süreçlerinde takip ettikleri parametreler de önem arz etmektedir.

META-ANALİZ, SİSTEMATİK DERLEME VE HIZLIDERLEMENİN GÜÇLÜ VE ZAYIFYÖNLERİ

Sistemik derlemeler, yazarların tanımlanmış bir konu hakkındaki tüm ilgili çalışmalarını bir araya getirip sunmasına imkân veren kapsamlı arama stratejilerini içerir (DeLuca ve ark., 2008). Meta-analitik derlemeler ise sistemik incelemeler sonrası yazarların istatistiksel anlamlılık ve alaka düzeyi hakkında bilgi elde etmek için çalışmalar genelinde sonuçları niceliksel olarak değerlendirilmesi ve sentezlenmesine yardımcı olur. Temel araştırma verilerinin sistemik incelemeleri, kapsamlı ikincil analize izin veren, bilgi açısından zengin veri tabanları üretme potansiyeline sahiptir (Haby, 2016). Bununla birlikte uzmanlar, sistemik incelemenin daha çok ilgili çalışmayı tanımlamak ve değerlendirmekle ilgili olduğunu, meta-analizin ise çalışmaların etki boyutunu tahmin etmek için istatistiksel olarak bu çalışmaları birleştirmekle ilgili olduğunu belirtmektedir. Tarihsel olarak bakılacak olursa, istatistiksel belirsizliği azaltmak amacıyla kullanılan kantitatif sentez (meta-analiz), önyargıyı azaltmaya yönelik kullanılan sistemik incelemelerden önce geliştirilmiştir (Rosenfeld, 2004). Hızlı incelemelerde ise ana amaç, adından da anlaşılacağı gibi, bilgiyi sentezlemek için gereken süreyi azaltmaktır.

Yazarlar eğer kapsamlı bir zaman yatırımı yapmadan alanın durumu hakkında genel bir fikir edinmeyi tercih ederlerse, hızlı incelemelerin sistemik yaklaşımlara uygun bir alternatif olacağını söylemek mümkündür. Arama stratejileri, arama özgüllüğünü artırarak oluşturulur, böylece araştırmanın kapsamı daraltılır ve böylece araştırmayla belirlenen alakasız çalışmaların sayısı azaltılır (Haby, 2016). Hızlı bir incelemenin gücü, gözden geçirenin ihtiyaçlarına uyum sağlaması ile değişiklik gösterir ve bu da standartlaştırılmış bir metodoloji eksikliğine neden olur (Mattivi ve Buchberger, 2016). Mevcut bilgi havuzunu kapsamlı bir şekilde incelemek için arama kriterleri ilgili çalışmaları kaçırmayacak kadar hassas olmalıdır. *Medical Subject Headings (MeSH)* gibi arama arayüzlerinde eşanlamlı anahtar kelimeler, dizin terimleri olarak ifade edilen anahtar terimler ve kavramlar, AND, OR ve NOT operatörleri kullanılarak arama sahası oluşturulmalıdır (Ecker ve Skelly, 2010). Arama stratejisi seçilen çalışmalardan birini bile alamazsa, arama stratejisinin daha fazla optimizasyon gerektirdiği anlaşılır. Ardından süreç tekrarlanır, arama stratejisi tatmin edici bir seviyede performans gösterene kadar her tekrarlanan adımda arama stratejisi güncellenir (Finfgeld-Connett ve Johnson, 2013). Bu aşamada seçim önyargısını ve ilgili hataları en aza indirmek için en az iki bağımsız araştırmacının değerlendirmeye dahil edilmesi önerilir (Mikolajewicz ve Komarova, 2019).

Sistemik ve hızlı incelemelerde, ilgili çalışmaların seçimi farklı stratejilere dayanırken, sistemik ve hızlı incelemelerden sonra elde edilen verileri sentezlemek için kullanılan istatistiksel yöntemler aynıdır (Mikolajewicz ve Komarova, 2019).

DEĞERLENDİRME VE SONUÇ

Tüm değerlendirmeler ışığında meta-analizin özellikle veteriner hekimliği alanında ve bunu takiben veteriner farmakoloji ve toksikolojide yeterince üstünde durulmayan bir alan olduğu yorumu ortaya konulabilir. Bu derleme ile meta-analiz, sistemik derleme ve hızlı derlemenin amaçları, yapıları ve farkları ortaya konulmaya çalışılmıştır. Verilen çalışma örnekleriyle de konunun anlaşılmasının pekiştirilmesi amaçlanmıştır.

KAYNAKLAR

- Akgöz, S., Ercan, İ. & Kan, İ. (2004). Meta-analizi. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 30(2), 107-112.
Bakioğlu, A. & Göktaş, E. (2018). Bir Eğitim Politikası

- Belirleme Yöntemi: Meta Analiz. *Medeniyet Eğitim Araştırmaları Dergisi*, 1(2), 35-54.
- Borenstein, M., Hedges, L. V., Higgins, J. P. & Rothstein, H. R. (2021). *Introduction to meta-analysis*. John Wiley & Sons.
- Card, N. A. (2012). *Applied meta-analysis for social science research*. New York: The Guilford Press.
- CMA Version 3, (2022). Erişim Adresi: <https://www.meta-analysis.com/> Erişim Tarihi: 28.04.2022.
- Cochran, W. G. (1954). The combination of estimates from different experiments. *Biometrics*, 10, 101-129.
- De Boer, H. J. & Cotingting, C. (2014). Medicinal plants for women's healthcare in southeast Asia: a meta-analysis of their traditional use, chemical constituents, and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 151(2), 747-767.
- Deeks, J. J. (2001). Statistical methods for examining heterogeneity and combining results from several studies in meta-analysis. *Systematic reviews in health care*, 285-312.
- DeLuca, J. B., Mullins, M. M., Lyles, C. M., Crepaz, N., Kay, L. & Thadiparthi, S. (2008). Developing a comprehensive search strategy for evidence based systematic reviews. *Evidence Based Library and Information Practice*, 3(1), 3-32.
- Durlak, J. A. & C Lipsey, M. W. (1991). A practitioner's guide to meta-analysis. *American Journal of Community Psychology*, 19(3), 291-332.
- Ecker, E. D. & Skelly, A. C. (2010). Conducting a winning literature search. *Evidence-Based Spine-Care Journal*, 1(1), 9.
- Finfgeld-Connert, D. & Johnson, E. D. (2013). Literature search strategies for conducting knowledge-building and theory-generating qualitative systematic reviews. *Journal of Advanced Nursing*, 69(1), 194-204.
- Ganann, R., Ciliska, D. & Thomas, H. (2010). Expediting systematic reviews: methods and implications of rapid reviews. *Implementation Science*, 5(1), 1-10.
- Green, S. (2005). Systematic reviews and meta-analysis. *Singapore Medical Journal*, 46(6), 270.
- Haby, M. (2016). What are the best methodologies for rapid reviews of the research evidence for evidence-informed decision making in health policy and practice: a rapid review. *Health Research Policy and Systems*, 14, 83.
- Haidich, A. B. (2010). Meta-analysis in medical research. *Hippokratia*, 14(Suppl 1), 29.
- Hansen, H. & Trifkovic, N. (2013). Systematic reviews: Questions, methods and usage. Erişim Adresi: https://mpira.ub.uni-muenchen.de/47993/1/MPRA_paper_47993.pdf Erişim Tarihi: 19.02.2022.
- Heckman, J.J. (1990). Selection Bias and Self-selection. In Eatwell, J., Milgate, M., Newman, P. Editors. *Econometrics*, Springer; 1990 10.1007/978-1-349-20570-7(Chapter 29), 201-224.
- Higgins, J. P. (2011). *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions*. Version 5.1.0 [updated March 2011]. The Cochrane Collaboration. Erişim Adresi: www.cochrane-handbook.org Erişim Tarihi: 11.02.2022
- Hyland, J. R. (2012). Building on the evidence: Interventions promoting NCLEX success. *Open Journal of Nursing*, 2, 231-238.
- Israel, H. & Richter, R. R. (2011). A guide to understanding meta-analysis. *Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy*, 41(7), 496-504.
- Jadad, A. R., Cook, D. J., Jones, A., Klassen, T. P., Tugwell, P., Moher, M. & Moher, D. (1998). Methodology and reports of systematic reviews and meta-analyses: a comparison of Cochrane reviews with articles published in paper-based journals. *JAMA*, 280(3), 278-280.
- Karaçam, Z. (2013). Sistematik derleme metodolojisi: Sistematik derleme hazırlamak için bir rehber. *Dokuz Eylül Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Elektronik Dergisi*, 6(1), 26-33.
- Lau, J., Ioannidis, J. P. & Schmid, C. H. (1998). Summing up evidence: one answer is not always enough. *The Lancet*, 351(9096), 123-127.
- Lee, Y. H. (2018). An overview of meta-analysis for clinicians. *The Korean Journal of Internal Medicine*, 33(2), 277.
- Lockwood, C. & Oh, E. G. (2017). Systematic reviews: Guidelines, tools and checklists for authors. *Nursing & Health Sciences*, 19(3), 273-277.
- Masic, I., Miokovic, M. & Muhamedagic, B. (2008). Evidence based medicine—new approaches and challenges. *Acta Informatica Medica*, 16(4), 219.
- Mattivi, J. T. & Buchberger, B. (2016). Using the AMSTAR checklist for rapid reviews: is it feasible? *International Journal of Technology Assessment in Health Care*, 32(4), 276.
- Meta-Disc Version 1.4, (2022) <https://meta-disc.software.informer.com/1.4/> Erişim Tarihi: 12.02.2022.
- Mikolajewicz, N. & Komarova, S. V. (2019). Meta-analytic methodology for basic research: a practical guide. *Frontiers in Physiology*, 10, 203.
- Milo, R., Jorgensen, P., Moran, U., Weber, G. & Springer, M. B. (2010). The database of key numbers in molecular and cell biology. *Nucleic Acids Research*, 38, D750-D753.
- MIX Version 2.0, (2022). <https://www.meta-analysis-made-easy.com/> Erişim Tarihi: 28.04.2022.
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D. G. & Group, P. (2009). Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement.

- PLoS Medicine, 6(7), e1000097.
- NCCTC (2014). Review manager (RevMan)[computer program] Version 5.3. Copenhagen: The Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration.
- Nielsen, S. & McAuley, A. (2020). Etizolam: A rapid review on pharmacology, non-medical use and harms. *Drug and Alcohol Review*, 39(4), 330-336.
- Normand, S. L. T. (1999). Meta-analysis: formulating, evaluating, combining, and reporting. *Statistics in Medicine*, 18(3), 321-359.
- Pearson, K. (1904) Report on certain enteric fever inoculation statistics. *British Medical Journal*, 3:1243-1246.
- PRISMA, (2022). www.prisma-statement.org Erişim Tarihi: 12.02.2022.
- Pubmed (2022a). Veteriner Hekimliği Alanında Meta-Analiz Üzerine Yapılan Çalışmaların Yıllara Göre dağılımı ("*meta-analysis in veterinary medicine*" anahtar kelimeleri ile yapılan Pubmed arama sonuçları) Erişim Adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/> Erişim Tarihi: 12.02.2022
- Pubmed (2022b). Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Alanında Meta-Analiz Üzerine Yapılan Çalışmaların Yıllara Dağılımı ("*meta analysis in veterinary pharmacology and toxicology*" anahtar kelimeleri ile yapılan Pubmed arama sonuçlarına göre hazırlanmıştır) Erişim Adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/> Erişim Tarihi: 12.02.2022
- Pubmed (2022c). Veteriner Hekimliği Alanında Yıllara Göre Yapılan Sistemik Derleme Sayısı ("*systematic review in veterinary medicine*" anahtar kelimeleri ile yapılan Pubmed arama sonuçlarına göre) Erişim Adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/> Erişim Tarihi: 12.02.2022
- Pubmed (2022d). Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Alanında Yıllara Göre Sistemik Derleme Çalışma Sayıları Sütun Grafiği ("*systematic review in veterinary pharmacology and toxicology*" anahtar kelimeleri ile yapılan Pubmed arama sonuçlarına göre) Erişim Adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/> Erişim Tarihi: 12.02.2022
- R Version 4.2.0, (2022). <https://cran.r-project.org/bin/windows/base/> Erişim Tarihi: 28.04.2022.
- RevMan Version 5, (2022). <https://training.cochrane.org/online-learning/core-software-cochrane-reviews/revman/revman-5-download/download-and-installation> Erişim Tarihi: 12.02.2022.
- Rosenfeld, R. M. (2004). Meta-analysis. *Outcomes Research in Otorhinolaryngology*, 66(4), 186-195.
- Rosenthal, R. & DiMatteo, M. R. (2001). Meta-analysis:Recent developments in quantitative methods for literature reviews. *Annu.Rev.Psychol.*, 52:59-82.
- Sackett, D. L., Rosenberg, W. M., Gray, J. M., Haynes, R. B. & Richardson, W. S. (1996). Evidence based medicine: what it is and what it isn't. *British Medical Journal* 312, 71-72.
- Sargeant, J. M. & O'Connor, A. M. (2020). Scoping reviews, systematic reviews, and meta-analysis: Applications in veterinary medicine. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 11.
- SAS Viya, (2022). https://www.sas.com/en_us/software/viya.html Erişim Tarihi: 28.04.2022
- Şen, S. (2019). SPSS ile meta-analiz nasıl yapılır? *Harran Maarif Dergisi*, 4(1), 21-49.
- Shuster, J. J. (2011). *Cochrane handbook for systematic reviews for interventions*, Version 5.1. 0, published 3/2011. Julian PT Higgins and Sally Green, Editors. In: Wiley Online Library.
- Smith, M. L. & Glass, G. V. (1977). Meta-analysis of psychotherapy outcome studies. *American psychologist*, 32(9), 752.
- StataCorp, L. (2017). *Stata Statistical Software: Release 15* College Station, TX, 2017. Erişim Adresi: www.stata.com/features/documentation/(last accessed on 1 March 2018). Erişim Tarihi: 28.04.2022
- Stata Version 17, (2022). <https://www.stata.com/order/> Erişim Tarihi: 28.04.2022
- Takooree, H., Aumeeruddy, M. Z., Rengasamy, K. R., Venugopala, K. N., Jeewon, R., Zengin, G. & Mahomoodally, M. F. (2019). A systematic review on black pepper (*Piper nigrum* L.): From folk uses to pharmacological applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(sup1), S210-S243.
- Tippett, L. (1931) *The Methods of Statistics*, Williams and Norgate, Ltd., London, 1st edition. Sec. 3.5, 53-6, as cited by Birnbaum and by Westberg.
- Tricco, A. C., Antony, J., Zarin, W., Striffler, L., Ghassemi, M., Ivory, J., Perrier, L., Hutton, B., Moher, D. & Straus, S. E. (2015). A scoping review of rapid review methods. *BMC Medicine*, 13(1), 1-15.
- Trikalinos, T. A., Salanti, G., Zintzaras, E. & Ioannidis, J. P. (2008). Meta-analysis methods. *Advances in Genetics*, 60, 311-334.
- Wallace, B. C., Schmid, C. H., Lau, J. & Trikalinos, T. A. (2009). Meta-Analyst: software for meta-analysis of binary, continuous and diagnostic data. *BMC Medical Research Methodology*, 9(1), 1-12.
- Wang, J. & Leeflang, M. (2019). Recommended software/packages for meta-analysis of diagnostic accuracy. *Journal of Laboratory and Precision Medicine*, 4, 22.
- Xu, H., Platt, R. W., Luo, Z. C., William, S. & Fraser, W. D. (2008). "Exploring Heterogeneity in Meta Analyses: Needs, Resources and Challenges". *Paediatric and*

Perinatal Epidemiology, 22/1, 18-28.

Yıldız, N. & Tez, M. (2009). Meta-analizinde kategorik verilerin birleştirilmesinde kullanılan istatistiksel yöntemler: Aktif ve pasif sigara içicilerin değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi İşletme Fakóltesi Dergisi, 38(2), 134-146.

Zamora, J., Abraira, V., Muriel, A., Khan, K. & Coomarasamy, A. (2006). Meta-DiSc: a software for meta-analysis of test accuracy data. BMC Medical Research Methodology, 6(1), 1-12.