



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



FARKLI TÜRLERE AİT ADENOVİRUS HEXON GEN BÖLGESİNİN KARŞILAŞTIRMALI ANALİZİ

Aliye BAŞTUĞ

**VİROLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Tuba Çiğdem OĞUZOĞLU**

ANKARA

2019

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI TÜRLERE AİT ADENOVİRUS HEXON GEN
BÖLGESİNİN KARŞILAŞTIRMALI ANALİZİ

Aliye BAŞTUĞ

VİROLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Tuba Çiğdem OĞUZOĞLU

Bu araştırma Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Numune Eğitim ve
Araştırma Hastanesi Bilimsel Araştırma Projeleri
2017-0024 proje numarası ile desteklenmiştir

ANKARA

2019

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Doktora Tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Farklı Türlerle Ait Adenovirus Hexon Gen Bölgesinin Karşılaştırmalı Analizi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Aliye BAŞTUĞ

Tarih:

İmza:

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	x
Çizelgeler	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	1
1.2. Amaç ve Kapsam	5
1.3. Adenovirusların Genel Özellikleri	7
1.3.1. Yapısı	7
1.3.2. Adenovirus Replikasyonu	8
1.3.3. Adenovirus Patogenezi	9
1.3.4. Adenovirus Epidemiyolojisi	11
1.3.5. Adenovirus Enfeksiyonları	12
1.4. Adenovirusların Tanısı	15
1.4.1. Virus İzolasyonu	16
1.4.2. Elektron Mikroskopi	16
1.4.3. Antijen Saptama	17
1.4.4. Nükleik Asit Saptama Testleri	17
1.4.5. Nötralizasyon Testleri	19
1.5. Adenovirus Enfeksiyonlarında Tedavi ve Korunma	20
1.5.1. Enfeksiyon Kontrol Önlemleri	21

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Viroloji Anabilim Dalında

Aliye BAŞTUĞ tarafından hazırlanan “Farklı Türlerle Ait Adenovirus Hexon Gen Bölgesinin
Karşılaştırmalı Analizi” adlı tez çalışması
aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak
OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile kabul / red edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 20.12.2019

Prof.Dr. Yılmaz AKÇA
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı



Prof.Dr. Tuba Çiğdem OĞUZUĞLU (Danışman)
Ankara Üniversitesi
Üye



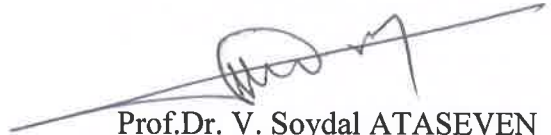
Prof.Dr. Hakan YARDIMCI
Ankara Üniversitesi
Üye



Prof.Dr. Hürrem BODUR
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Üye



Prof.Dr. V. Soydal ATASEVEN
Mustafa Kemal Üniversitesi
Üye



Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof.Dr. Mehmet AKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdür

2. GEREÇ VE YÖNTEM	22
2.1. Gereç	22
2.1.1. Tez Numuneleri ve Pozitif / İnternal Kontroller	22
2.1.2. Tez Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeleri	23
2.1.3. Kitler	23
2.1.4. Cihazlar	24
2.2. Yöntem	24
2.2.1. Viral Nükleik Asit İzolasyonu	24
2.2.2. AdV Tanısı ve Moleküler Karakterizasyonuna Yönelik Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	25
2.2.3. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi	28
2.2.4. Amplikonların Purifikasyonu	29
2.2.5. Dizin Analizi	30
2.2.6. Moleküler in silico analiz, Karakterizasyon ve Filogenetik Ağaç Oluşturulması	31
3. BULGULAR	33
3.1. Adenovirus Tanısı ve Moleküler Karakterizasyon Sonuçları	33
3.2. Elde Edilen Epidemiyolojik Veriler	37
4. TARTIŞMA	50
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	58
ÖZET	59
SUMMARY	60
KAYNAKLAR	61
EKLER	71
Ek-1. Etik Kurul Raporu	71
ÖZGEÇMİŞ	73

ÖNSÖZ

Adenovirüsler; insan adenoid dokusundan ilk kez 1953 yılında izole edilmelerini takiben, Veteriner Virolojistler tarafından da araştırma konusu olarak seçilmiş ve memeli, kanatlı, rodent ve reptiller olmak üzere birçok farklı hayvan türünde varlığı belirlenmiş, çoğunlukla konakçı spesifik olarak tanımlanan viral ajanlardır.

Bu tez çalışmasında, Ülkemizde 2015 ve 2016 yıllarında Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'na (THSK) gönderilen solunum yolu örneklerinden tespit edilen Adenovirüsler'in moleküler karakterizasyonu yanı sıra, Viroloji Anabilim Dalı virus stoklarında bulunan 3 adet sığır ve 4 adet koyun orijinli Adenovirüs'un hexon gen bölgelerinin dizin analizlerinin karşılaştırılmasına dayalı veriler sunulmuştur. İnsan Adenovirüslerinin genotiplerinin belirlenmesi, bu tiplerin coğrafik dağılımı, özellikle ağır hastalık tablosu oluşturan genotiplerin varlığının araştırılması gerçekleştirilmiştir. Filogenetik analizler; Adenovirüs'ların varyasyonlara açık, genotip tayininde kullanılan hexon gen bölgesi hedef alınarak yapılmış olup, seçilen bazı örneklerde bu bölgenin tam genom analizleri sonucunda güncel bilgiler elde edilmiş, Ülkemiz orijinli Adenovirüs tipleri hakkında literatüre katkı sağlayacak verilere ulaşılmıştır.

Türkiye'nin farklı illerinden sentinel ve nonsentinel surveyans kapsamında THSK'ya gönderilen ve adenovirüs PCR pozitifliği tespit edilen 68 örneğe ait ekstraktlar, Sağlık Bilimleri Üniversitesi (SBÜ) Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu izni (No: E-17-1348) ile temin edilmiştir. Tez çalışması, SBÜ Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu'na sunulurken proje desteği alınmıştır (Proje destek no: 2017-0024).

Doktora eğitimim süresince Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarını kullanma izni veren ve akademik olarak destek olan

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yılmaz AKÇA'ya, tez çalışmalarım dahil akademik eğitimim boyunca desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Tuba Çiğdem OĞUZOĞLU'na, eğitimime katkılarından dolayı Viroloji Anabilim Dalı öğretim üyesi hocalarım, Prof. Dr. Feray ALKAN'a, Prof. Dr. Aykut ÖZKUL'a, Prof. Dr. Seval BİLGE DAĞALP'e, Prof. Dr. Mehmet Taner KARAOĞLU'na; ayrıca tez izleme komitesi jüri üyesi Prof. Dr. Hakan YARDIMCI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca doktora eğitimime başlamam hususunda ve ihtisasım boyunca bana mentörlük eden Prof. Dr. Hürrem Bodur'a, örneklerin temini hususunda desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Gülay Korukluoğlu nezdinde tüm THSK Viroloji Laboratuvarı çalışanlarına, doktora eğitimim süresince daimî desteklerini aldığım; başta Arş. Gör. Dr. B. Taylan KOÇ ve Arş. Gör. Dr. Ayşe Zeynep AKKUTAY olmak üzere; anabilim dalı araştırma görevlileri ile lisansüstü öğrencilerine; ayrıca Mihrime TÜSÜZ olmak üzere anabilim dalımızın idari personeline teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın her aşamasında bana karşılıksız maddi manevi desteklerinden dolayı Babam Mehmet TANRICI ve Annem Ayfer TANRICI'ya, kendi yoğun akademik çalışması yanı sıra bana her zaman destek olan eşim Serdal BAŞTUĞ'a, hayatın bana verdiği en güzel hediyeler olan evlatlarım Mehmet Arda ve Hatice Eylül BAŞTUĞ'a sabırları ve sevgileri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AdV	Adenovirus
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
BAdV	Bovine Adenovirus
bp	Baz çifti, Base Pair
CAR	Coxackie Adenovirus Reseptörü
CDC	Amerika Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
DNA	Deoksiribo-Nükleik-Asit
dNTP	Deoksi Nükleotit Tri Fosfat
EM	Elektron mikroskopi
ETOH	Etanol
HAdV	Human Adenovirus
HeLa	İnsan serviks karsinomu
HEp-2	İnsan larinks epidermoit karsinomu
HEK	Primer insan embriyonik böbrek hücreleri
HVR-7	Hypervariable Region
ICTV	Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi
kb	Kilobaz
MEGA	Molecular Evolutionary Genetic Analysis
Mg	Magnezyum
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
ML	Maximum-Likelihood
NCBI	National Center for Biotechnology Information
OAdV	Ovine Adenovirus
PCR	Polimerase Chain Reaction
PFGE	Pulse Field Gel Electrophoresis
RE	Restriksiyon endonükleaz
REA	Restriksiyon Enzim Analizi
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism

RNA	Ribonükleik asit
TAE	Tris Asetat Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
Taq	Thermus Aquaticus
THSK	Türkiye Halk Sağlığı Kurumu
TP	Terminal protein
UV	Ultra Viole



ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Adenovirus kapsid yapısı	7
Şekil 1.2.	Adenovirusun hücre içine girişi ve replikasyon siklusu	8
Şekil 1.3.	Adenovirusun elektron mikroskop görüntüsü	16
Şekil 3.1.	OAdV kullanılarak yapılan optimizasyon çalışmasına ait PCR'ın jel görüntüsü	33
Şekil 3.2.	HAdV hexon geni V1 bölgesine ait PCR görüntüsü	34
Şekil 3.3.	AdV <i>hexon</i> gen bölgesi yönünden filogenetik ağaç	35
Şekil 3.4.	Parsiyel hexon gen bölgesi rekombinasyon sinyal analizi	36
Şekil 3.5.	Parsiyel hexon amino asit karşılaştırması	37
Şekil 3.6.	HAdV (+) Olguların İllere göre Dağılımı	38
Şekil 3.7.	HAdV (+) Vakaların Mevsimsel Dağılım Yüzdesi	38
Şekil 3.8.	HAdV (+) Vakaların Aylara göre Dağılımı	39
Şekil 3.9.	HAdV (+) Vakaların Genotip Dağılım Yüzdesi	39
Şekil 3.10.	HAdV (+) Olgularda Saptanan Mastadenovirus Gruplarının Dağılım Yüzdesi	40
Şekil 3.11.	HAdV Hexon 1F ve 1R primerleri ile elde edilen ürünlere ait PCR görüntüsü	42
Şekil 3.12.	HAdV Hexon 2F ve 2R primerleri ile elde edilen ürünlere ait PCR görüntüsü	42
Şekil 3.13.	HAdV Hexon 3F ve 3R primerleri ile elde edilen ürünlere ait PCR görüntüsü	43
Şekil 3.14.	Human Adenovirus Komple Hexon geni orijinli Maximum-Likelihood (ML) filogenetik ağacı	44
Şekil 3.15.	Human Adenovirus Parsiyel Hexon geni (550 baz uzunluğu) orijinli Maximum - Likelihood (ML) filogenetik ağacı	46
Şekil 3.16.	RDP4 programı ile yapılan rekombinasyon analizi	47
Şekil 3.17.	Tam hexon geni nükleotid benzerlik ve farklılık tablosu	49

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi (ICTV) Adenooviridae	2
Çizelge 1.2.	Mastadenovirus alt grupları ve genotiplerinin dağılımı	3
Çizelge 1.3.	Adenovirus serotipleri ve ilişkili oldukları klinik sendromlar	9
Çizelge 2.1.	AdV tanısı ve parsiyel sekans analizi için kullanılan primer dizinleri	26
Çizelge 2.2.	AdV hexon geni tam genom analizi kullanılan primer dizinleri	26
Çizelge 2.3.	Mast Adenovirus primerleri için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) karışımı	27
Çizelge 2.4.	HAdV Hexon tam genom analizi için PCR komponent karışım miktarları	27
Çizelge 2.5.	AdV'a ait ilgili primerlere ait PCR döngü protokolleri	28
Çizelge 3.1.	Burun sürüntü örneklerinde Adenovirus PCR pozitif saptanan hastaların demografik verileri	37
Çizelge 3.2.	HAdV pozitifliği saptanan 23 örneğe ait demografik ve moleküler analiz verileri	41

1. GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler

Adenovirüsler; 1953 yılında insan adenoid dokusundan izole edilmiş ve ilk kaynağına atfen bu ismi almışlardır (Blasiole ve ark., 2004). Doğada yaygın olarak bulunan bu virüsler, insan ve hayvanlarda enfeksiyonlara neden olabilirler. Tarihsel açıdan bakıldığında Adenovirüsler, DNA replikasyonu ve alternatif splicing gibi temel moleküler biyolojinin anlaşılmasında büyük rol oynamışlardır. Yeni hayvan Adenovirüslerinin tanımlanması, “Tek Tıp-Tek Sağlık” konseptinde insan ve hayvan sağlığı yönünden önemli olmakla birlikte, Adenovirüslerin tedavide kullanılması açısından da önemli bilgiler sağlamaktadır (Alonso ve ark., 2016). Günümüzde modifiye Adenovirüs (AdV) formları kanser tedavilerinde ve aşı geliştirilmesi için vektör olarak kullanılabilir (Majhen ve ark., 2014).

AdV’lar; epiteloid hücrelerde akut litik enfeksiyon oluşturabilirken, lenfoid hücrelerde latent olarak kalabilirler. Aynı zamanda hayvanlarda tümör oluşturabilmekte ve hücre kültürlerinde transformasyona yol açabilmektedirler. Konak hücre spektrumunun geniş olması, hazırlama ve saflaştırılmasının kolay olması gibi nedenlerle gen tedavilerinde vektör olarak da kullanılmaktadırlar (Lundstrom ve ark., 2003).

Adenoviridae familyası altında; *Atadenovirus*, *Aviadenovirus*, *Ichtadenovirus*, *Siadenovirus* ve *Mastadenovirus* genusları olmak üzere 5 grupta sınıflandırılmaktadır. Bu genuslar içerisinde farklı türleri enfekte eden çok sayıda AdV tipi bulunmaktadır. *Adenoviridae* ailesinde yer alan ve tez çalışmada da araştırılan İnsan AdV’ları (HAdV), sığır AdV’ları (BAdV) ve koyun AdV’ları (OAdV) memelileri enfekte eden *Mastadenovirus* genusu içerisinde yer almaktadır (Çizelge 1.1) (Banik ve ark., 2005; King ve ark., 2011).

Çizelge 1.1. Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi (ICTV)'nin, Temmuz 2018 toplantısı ile şekillenen genel AdV taksonomisi (ICTV 9th Report, 2011/Updated in 2018, Washington, Erişim Tarihi: 5 Mayıs 2019).

Aile: <i>Adenoviridae</i>
+ Genus: <i>Atadenovirus</i>
+ Genus: <i>Aviadenovirus</i>
+ Genus: <i>Ichtadenovirus</i>
+ Genus: <i>Siadenovirus</i>
- Genus: <i>Mastadenovirus</i>
Tür: Bovine Mastadenovirus A
Tür: Bovine Mastadenovirus B
Tür: Bovine Mastadenovirus C
Tür: Ovine Mastadenovirus A
Tür: Ovine Mastadenovirus B
Tür: Human Mastadenovirus A
Tür: Human Mastadenovirus B
Tür: Human Mastadenovirus C
Tür: Human Mastadenovirus D
Tür: Human Mastadenovirus E
Tür: Human Mastadenovirus F
Tür: Human Mastadenovirus G

Nötralizasyon testleri ve moleküler yöntemlerle alt grupların ayrımı yapılabilir olup, insan, sığır ve koyun AdV'lerinin çok sayıda genotipi tanımlanmıştır (Çizelge 1.2) (Chen ve ark., 2016; Gu ve ark., 2017; Zhang W., 2019).

Çizelge 1.2. Mastadenovirus alt grupları ve genotiplerinin dağılımı

BadV A	1
BadV B	3
BadV C	10
OadV A	2, 3, 4, 5
OadV B	1
HadV A	12, 18, 31
HadV B	3, 7, 11, 14, 16, 21, 34, 35, 50, 55
HadV C	1, 2, 5, 6, 57
HadV D	8, 9, 10, 13, 15, 17, 19, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32, 33, 36, 37, 38, 39, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 51, 53, 54
HadV E	4
HadV F	40, 41
HadV G	52

Bovine AdV'lara ait 10 serotip tanımlanmış olup bunlar; *Mastadenovirus* ve *Atadenovirus* olarak iki cins altında bulunmaktadır. *Mastadenovirus* genusunda BAdV 1, 2, 3, 9 ve 10 serotipleri yer alırken, *Atadenovirus* genusunda BAdV 4, 5, 6, 7 ve 8 serotipleri bulunmaktadır (Fulton RW, 2009).

Ovine AdV ilk kez 1969 yılında koyunlardan izole edilmiştir (McFerran JB ve ark., 1969; Martin WB, 1983). Mastadenovirus genusunda Ovine mastadenovirus A ve B olmak üzere 2 grup yer almaktadır. Ovine mastadenovirus A grubu içerisinde Ovine

adenovirus 2-5 (OAdV 2-5), Ovine mastadenovirus B grubu içerisinde de OAdV-1 ve keçilerden izole edilen Adenovirus 2 (GAdV2) bulunmaktadır (Chen ve ark., 2016; Vidovszky ve ark., 2019). AdV'lar, birçok sistemi enfekte ederek, çeşitli klinik tablolara yol açabilmektedir. Üst ve alt solunum yolu enfeksiyonları (krup, bronşiyolit, bronşit, pnömoni vs), konjunktivit, gastroenterit, sistit ve daha nadiren de nörolojik hastalık tablosuna neden olabilmektedir (Mandel ve ark., 2009). Sığırlarda enfeksiyona yol açan Bovine AdV (BAdV) tipleri solunum, sindirim ve oküler sistem enfeksiyonlarına yol açabilmektedir. BAdV 1 solunum sistemi enfeksiyonlarına ve keratokonjunktivite yol açarken, BAdV 3, 4, 7 ve 10 enterik hastalık ile ilişkilidir (Uzal ve ark., 2016). Koyun ve keçilerde enfeksiyona yol açan OAdV sıklıkla solunum sistemi enfeksiyonlarına yol açarken, nadiren intestinal sistem enfeksiyonlarına da yol açabilmektedir (Belak ve ark., 1980).

Virusun giriş yeri sıklıkla primer hastalık bölgesini belirlemektedir. Farklı AdV gruplarında doku tropizmi değişmektedir. Örneğin; insanları enfekte eden AdV grup C, E ve bazı B alt tipleri tipik olarak solunum sistemine tropizm gösterirken, grup A ve F gastrointestinal sisteme, grup D oküler ve gastrointestinal sisteme tropizm gösterir. Viral tropizmi belirleyen hücre yüzeyindeki yüksek affiniteli reseptörlerdir. AdV'ların çoğu (grup A, C, E ve F) için primer hücresel reseptör epitelyal hücre bileşeni olan Cocksackie- Adenovirus reseptörü (CAR), periferik ve santral sinir sistemi, akciğer, karaciğer, kalp, pankreas, bağırsak, prostat ve testis gibi farklı dokularda bulunur (Mandel ve ark., 2009).

AdV enfeksiyonları yıl boyunca endemik olup, her yaş grubunda görülebilmektedir. AdV'lar, ilkbahar ve kış aylarında özellikle kalabalık ortamlarda (okul, kışla vb) solunum yolu enfeksiyonu salgınlarına, yaz aylarında yüzme havuzuyla ilişkili olarak faringokonjunktival ateş salgınlarına ve oftalmolojik işlemler ile ilişkili olarak kerato-konjunktivite neden olabilmektedir (Saitoh-Inagawa ve ark., 2001; Ishiko ve ark., 2008). AdV'lar, sıklıkla hafif seyirli hastalığa yol açmakla birlikte, fatal seyirli enfeksiyonlar da oluşturabilmektedir (Carr ve ark., 2011). Erken çocukluk döneminde, yaşlılarda, altta yatan kardiyopulmoner hastalığı veya immün

yetmezliği olanlarda daha ağır hastalık oluşturabilmektedir (Ison ve ark., 2006; Lee ve ark., 2010 ve Scott ve ark., 2016). Semptomatik solunum sistemi enfeksiyonlarına yol açan AdV tipleri arasında alt grup B (tip 3, 7, 14 ve 21), alt grup C (tip 1, 2 ve 5) ve alt grup E (tip 4) yer almaktadır (Heim ve ark., 2003; Scott ve ark., 2016).

İnsan alışmalarında AdV'nin onkojenik rolü net değildir. Ayrıca; Adv tip 5 ve 36'nın obezite etiyolojisinde rol aldığı bildirilmektedir (Atkinson ve ark., 2005). Tüm bu nedenlerle AdV'un sıklığı, serotip dağılımı, yaş, cinsiyet gibi özelliklerle korelasyonu önem arz etmektedir.

1.2. Amaç ve Kapsam

AdV' lar ile ilgili insan enfeksiyonları dikkate alındığında, belirli tipleri daha ciddi klinik tablo ile ilişkilendirilmiştir. Ciddi klinik seyir ile ilişkili tipler; AdV tip 5, 7, 14 ve 21 olarak tanımlanmıştır. Ayrıca endemik ve epidemik hastalığa yol açan farklı tipler bildirilmiştir. Tip 1, 2, 5 ve 6 genellikle endemik hastalıkla ilişkili iken; tip 3, 4, 7 ve 21 epidemilere yol açmaktadır (Mandell ve ark., 2009). Toplum ve hastane kaynaklı salgınlar ile ilişkili spesifik tipler bulunmaktadır. Özellikle toplu yaşam koşullarında, askeri birliklerde, yeni doğan ünitelerinde salgın şeklinde solunum yolu enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. Farklı ölkelerde ve hatta aynı ölkenin değişik bölgelerinde alt tip dağılımı farklılık arz etmektedir (Chen ve ark., 2016). Son yıllarda ciddi hastalık tablosuna yol açan AdV B7 tipi Asya'da yeniden ortaya çıkan enfeksiyonlar (reemerging) arasında bildirilmektedir. 2011 yılında, Tayvan'da AdV tip 7'ye bağlı toplum kaynaklı salgın ulusal surveyans sistemi sayesinde tespit edilebilmiştir (Tsou ve ark., 2012). Yakın zamanlarda Amerika'da AdV B7 tipine bağlı solunum yolu enfeksiyonu bildirimi mevcut değilken, 2013-2014 arasında 64 hastada AdV B 7'ye bağlı ciddi solunum yolu enfeksiyonu geliştiği bildirilmiştir (Scott ve ark., 2016). Bu anlamda özellikle ölkede ciddi seyirli AdV tiplerinin sirkulasyonunun olup olmadığının belirlenmesi önem arz etmektedir.

Ülkemizde bugüne kadar insanlarda AdV B7'ye bağlı solunum yolu enfeksiyonu bildirimine dair literatür verisi bulunmamaktadır. Amerika Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC), 2014 yılında insan AdV tipleri ile ilgili bilgileri toplamak, sık görülen alt tipleri belirlemek ve salgın araştırmalarına rehberlik edebilmek amacıyla Ulusal Adenovirus tipi bildirim sistemi başlığı altında gönüllülük esasına dayalı pasif surveyans sistemi başlatmıştır. Bu surveyans sisteminin temel amacı; dolaşan AdV tiplerinin daha iyi tanımlanması ve Amerika'da görülebilecek salgınların tespitini sağlamaktır (Scott ve ark., 2016).

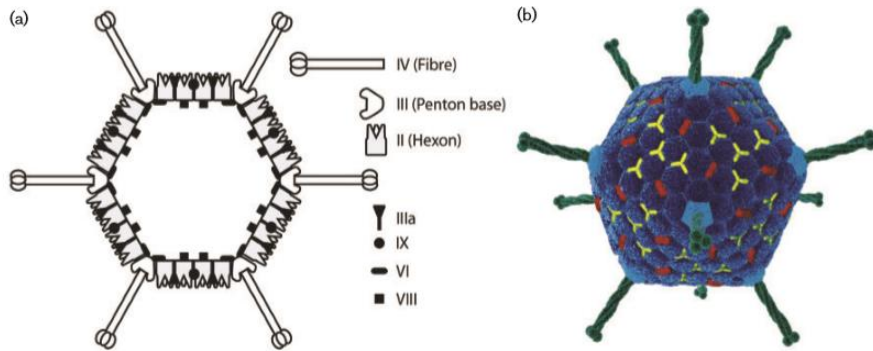
Ülkemizde solunum yolu enfeksiyonlarına yol açan etkenler arasında AdV sıklığı, pozitif örneklerin moleküler karakterizasyonu, genotiplendirilmesi ve filogenetik analizi ile ilgili kısıtlı sayıda literatür bilgisi mevcuttur (Sener ve ark., 2009; Çiçek ve ark., 2012).

Bu tez çalışması ile Ülkemizde insanlarda solunum yolu enfeksiyonuna yol açan AdV'ların moleküler karakterizasyonu, genotip dağılımı ve filogenetik analizi amaçlanmıştır. Ayrıca farklı türler olarak sığır ve koyun orijinli AdV'ların hexon gen bölgelerinin moleküler karakterizasyonu ve filogenetik analizleri gerçekleştirilmiş olup, çalışma sonucunda; güncel bilgilere ulaşılmış ve literatüre katkı sağlayacak veriler elde edilmiştir.

1.3. Adenovirusların Genel Özellikleri

1.3.1. Yapısı

AdV'lar; 70-90 nm çapında, çift zincirli lineer DNA içeren, zarfsız viruslardır. İkozaedral simetriye sahip kapsid yapısı, antijenik olarak farklı, virusun sınıflandırmasında önem arz eden, 252 kapsomerden oluşur (Russell, 2010). Major kapsid proteinleri arasında; yüzeyde yer alan 240 adet hexon (protein II), köşelerde yer alan 12 adet penton (protein III) ve bunlardan çıkan fiber uzantıları (protein 4) yer almaktadır. Fiber yapısı virusun hücrelere bağlanmasını sağlar, ayrıca hemaglutinasyondan sorumlu olup serotipe özgüdür. Hexon ve penton antijenik yapı olarak farklıdır. Hexon proteininin boyutu serotipe göre farklılık gösterir. Penton bazı ise tüm AdV'larda ortak yapıyı oluşturur ve hücre kültüründe virusun sitopatik etkisinden sorumludur. Protein IIIa, IV, VIII ve IX ise minör kapsid proteinleri arasında yer alır ve kapsid yapısını sabitlerler. Ayrıca kapsid içerisinde DNA'nın paketlenmesini sağlayan V, VII, Mu ve terminal protein (TP) bulunmaktadır (Şekil 1.1) (Vellinga ve ark., 2005; Saha ve ark., 2014).



Şekil 1.1. AdV kapsid yapısı, Vellinga ve ark. 2005 yayınından uyarlanmıştır (Vellinga ve ark., 2005).

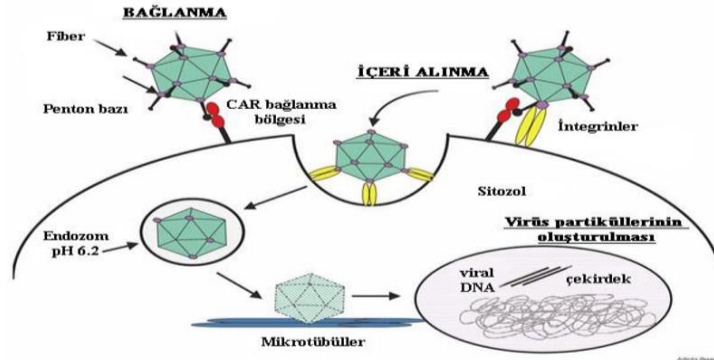
a) Tüm kapsid proteinlerinin kapsid içerisindeki yeri

b) Dış kapsidde yer alan majör ve minör kapsid proteinlerini gösteren ikozaedral virionun üç boyutlu gösterimi

■ Hexon proteini ■ Penton baz ■ Fiber uzantıları ■ Protein 3a ■ Protein 9

1.3.2. Adenovirus Replikasyonu

AdV enfeksiyon döngüsü; virusun hücre yüzey reseptörüne bağlanmasının ardından reseptör aracılı endositoz ile hücre içine girmesi, erken genlerin transkripsiyon /translasyona uğraması aşamalarını içeren erken faz ve geç genlerin sentezlenmesi ile virusun paketlenmesinden oluşan geç fazdan oluşur. Erken faz 6-8 saat kadar süre alırken, geç faz 4-6 saatte tamamlanır (Russell, 2000). AdV replikasyon döngüsü Şekil 1.2.'de özetlenmektedir (Vorburger ve ark., 2002).



Şekil 1.2. AdV'un hücre içine girişi ve replikasyon siklusu (Vorburger ve ark., 2002).

AdV- B grubu dışındaki diğer gruplarda, virusun hücre yüzeyine bağlanması fiber çıkıntıları ile (Coxsackie/Adenovirus Reseptörü) CAR arasındaki etkileşim sonucu gerçekleşir. B grubu AdV'lar ise heparan sülfat, CD46, CD80/86 ve siyalik asit gibi hücre yüzey moleküllerini kullanırlar (Lenaerts ve ark., 2008). Viral proteazlar aracılığıyla kapsid yapısı kısmen bozulan virus, nükleer membranı geçerek nükleusa ulaşır (Russell, 2000). Viral DNA'nın nükleusa geçmesi sonrasında erken (E) ve geç (L) mRNA'lar sentezlenir. E1 bölgesi AdV replikasyonunun düzenlenmesi ve başlaması açısından oldukça önemlidir.

Genom replikasyonunun gerçekleşmesinde önemli olan DNA polimeraz enzimi ise E2 bölgesi tarafından kodlanır. Yine E3 ve E4 bölgeleri de replikasyonun farklı aşamalarında rol alırlar. Replikasyon sonrasında geç gen transkripsiyonu gerçekleşir.

Sitoplazmada viral mRNA'lar tarafından sentezlenen yapısal proteinler nükleusa taşınır ve tam virus partikülü oluşur. Enfekte hücrelerde sentezlenen viral partiküller, adenovirus E3-11.6 K proteininin neden olduğu lizis ile serbest hale geçer (Doğanay ve ark., 2008). Enfekte hücre nükleusunda replike olan AdV'lar tanısal önemi olan nükleer bazofilik inklüzyon cisimcikleri oluştururlar.

1.3.3 Adenovirus Patogenezi

Nötralizasyon testleri ve moleküler yöntemlerle 60' ın üzerinde insan AdV serotipi tanımlanmıştır (Kolavic-Gray ve ark., 2002). Hemaglutinasyon paternleri, filogenetik analiz ve genom yapısına göre serotipler A - G arası 7 grupta sınıflandırılmaktadır. Belirli serotipler bağlandıkları reseptörler ve hücre tropizmlerindeki farklılıklar nedeniyle farklı klinik bulgulara yol açmaktadır. HAdV serotipleri ve sıklıkla ilişkili oldukları sendromlar Çizelge 1.3'te özetlenmektedir (Flomenberg ve ark., 2018). Bovine ve Ovine AdV suşlarının solunum sistemi ve gastrointestinal kanal enfeksiyonlarına yol açtığı bilinmekle birlikte, hangi tipin hangi sistemde daha sık enfeksiyona yol açtığına dair detaylı literatür verisi kısıtlıdır. Bu tez kapsamında referenz suşlar kullanıldığından, klinik bulgu ve hayvansal orijinli AdV suşlarının ilişkilendirilmesi hedeflenmemiştir.

Çizelge 1.3. İnsanlardaki Adenovirus serotipleri ve ilişkili oldukları klinik sendromlar

Tür	Serotip	Klinik sendrom
A	31	İnfanıl gastroenterit
B	3, 7, 21	Üst solunum yolu enfeksiyonu, pnömoni, faringokonjunktival ateş
	11, 34, 35	Hemorajik sistit, interstisyel nefrit
	14	Pnömoni
C	1, 2, 5	Üst solunum yolu enfeksiyonu, pnömoni, hepatit
D	8, 9, 17	Epidemik keratokonjunktivit
E	4	Üst solunum yolu enfeksiyonu, pnömoni
F	40, 41	İnfanıl gastroenterit

Adenoviruslara karşı gelişen immün yanıt; AdV'lar immunojenik ajanlar olup, güçlü doğal ve adaptif immün yanıtı neden olurlar. Enfeksiyon sonrası iyileşmede, ana kapsid proteinin hexon bölgesine karşı gelişen serotip spesifik nötralizan antikorların gelişimi ile ilişkilidir. Nötralize edici antikorlar, aynı serotiple tekrar enfeksiyon gelişmesini önlerken, diğer serotiplere karşı korumaz. AdV'larda, birçok viral enfeksiyonda olduğu gibi, konak savunma mekanizması hücre aracılı bağışıklık ile sağlanır. Ölümcül seyredebilen ciddi AdV enfeksiyonları sıklıkla immün yetmezlik ile ilişkili olup, özellikle hücrel immün yetmezliği olan hastalarda görülür (Flomenberg ve ark., 2018).

AdV-spesifik bellek CD4+ T hücreleri çoğu sağlıklı erişkinde görülebilir ve farklı serotiplere karşı çapraz reaktivite gösterebilir (Flomenberg ve ark., 1995). Akut enfeksiyon sonrası dışkıda virus saçılımı immünkompetan hastalarda haftalarca, immünsupresif hastalarda ise aylarca devam edebilmektedir (Fox ve ark., 1977). Literatürde enfekte solid organın nakli sonrası alıcıda enfeksiyon gelişen olgu bildirimleri mevcuttur (Myerowitz ve ark., 1975). Hematopoetik kök hücre nakil alıcılarında endojen enfeksiyonun reaktivasyonu sonrası da gelişebilir (Veltrop-Duits ve ark., 2011). AdV rezervuarları ve persiste enfeksiyon mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Tonsillerden alınan kültürlerde Adenovirus uzun süre saptanabilmektedir (Garnett ve ark., 2002). Adenoviruslar bazı hücrelerde lizise yol açmadan uzun süre persistan kalabilmektedir. Tonsiller ve intestinal lenfositlerin önemli viral rezervuarlar olduğu düşünülmektedir (Flomenberg ve ark., 2018).

Bovine AdV'lar da benzer şekilde asemptomatik ılımlı veya ciddi enfeksiyonlara yol açabilmekte olup; hastalığın ciddiyetinin enfeksiyona yol açan serotip ve bireyin immün sistemi ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Caswell, 2016).

Ovine AdV'lara karşı oluşan bağışık yanıt hakkında sınırlı bilgiler bulunmaktadır. Genellikle sekonder bakteriyel enfeksiyonların tabloya eşlik etmesi, AdV koşullu enfeksiyon tanısını baskılamaktadır. Yapılan çalışmalar hastalık

nedeniyle oluşan immün yanıtın süresi ve koruyuculuğundan daha çok seroprevalans çalışmaları şeklindedir (Lehmkuhl ve ark., 1985; Lehmkuhl ve ark., 1993).

1.3.4. Adenovirus Epidemiyolojisi

AdV enfeksiyonları her yaş grubunda, kış ve bahar aylarında daha sık olmak üzere tüm yıl boyunca görülebilir (Saitoh-Inagawa ve ark., 2001). İnfantlarda ve küçük çocuklarda görülen ateşli hastalıkların %5-10'una adenoviruslar neden olmaktadır (Fox ve ark., 1977). 10 yaş itibarıyla çoğu bireyde bir veya daha fazla AdV tipi ile geçirilmiş enfeksiyona dair serolojik kanıt bulunmaktadır. AdV enfeksiyonları gündüz bakım merkezlerinde ve küçük çocukların ev temaslarında sık görülmektedir. Nozokomiyal bulaş ta bildirilmiştir. Tüm dünyada özellikle kalabalık ortamlarda epidemik Adv enfeksiyonları görülebilmektedir. Özellikle yaz kamplarında yüzme havuzu ilişkili epidemik faringo-konjunktival ateş, tıp merkezlerinde görülebilen kerato-konjunktivitler ve askeri birliklerde görülebilen ciddi akut solunum yolu enfeksiyonları ortaya çıkabilmektedir (Kolavic-Gray ve ark., 2002). Bulaş aerosol damlacıkları, fekal-oral yol, uygun olmayan şekilde sterilize edilmiş tıbbi cihazlar aracılığıyla ve kontamine partiküllerin oto inokülasyonu yolu ile olabilmektedir (Ampuero ve ark., 2012). Çevresel yüzeylerde uzun süre canlı kalabilirler ve zarfsız viruslar olmaları nedeniyle lipid dezenfektanlara dirençlidirler. Isı, formaldehid ve sodyum hipoklorit ile inaktive olabilirler (Flomenberg ve ark., 2018).

AdV'lar solunum yolları, genitoüriner ve gastrointestinal sistem mukozal epitelyal hücrelerine ve konjunktivaya tropizm göstermektedir (Ampuero ve ark., 2012). AdV enfeksiyonu olan hastaların büyük çoğunluğuna tanısal test uygulanmadığından farklı serotiplerin prevalansı tam olarak bilinmemektedir. Her bir grup içerisindeki farklı serotipler DNA düzeyinde yakın ilişkili olup benzer biyolojik özelliklere sahiptir. Örnek olarak C grubunda yer alan 1, 2 ve 5 serotipleri üst solunum yolu enfeksiyonuna yol açarken F grubunda bulunan 40 ve 41 infantil gastroenterite yol açmaktadır. AdV'lar

genellikle endemik enfeksiyonlara (AdV tip 1, 2, 5 ve 6 yol açarken, toplu yaşam alanlarında epidemilere neden olan serotipler de (AdV tip 4, 7, 14 ve 21) tanımlanmıştır (Nava, 2015).

1.3.5. Adenovirus Enfeksiyonları

AdV'lar farklı konakçı tiplerinde çeşitli klinik semptomlara ve hastalık bulgularına yol açabilmektedir (Malmberg ve ark., 2017). İnsan AdV'ları dışında diğer memelilerde enfeksiyona yol açan AdV'larda da hepatit te görülebilmektedir (Cabasso ve ark., 1954). *Bovidae* ve *Ovidae* ailesinde yer alan AdV'lar çeşitli gastrointestinal ve solunum sistemi enfeksiyonlarına neden olabilmektedir (Belak ve ark., 1974; Malmberg ve ark., 2017). AdV enfeksiyonlarında klinik bulgular; viral serotip özelliklerine, konağın yaşı ve bağışıklık durumuna bağlı olarak farklılık göstermektedir.

İnsanlarda serotip 5, 7, 14 ve 21 ciddi hastalık tablosuna yol açabilmektedir (Gray ve ark., 2007). AdV'lar göz, solunum sistemi, gastrointestinal ve genitoüriner sistem gibi birçok sistemi etkileyebilmektedir. Sağlıklı bireylerde genellikle asemptomatik veya hafif bir klinik ile seyrederken, immunsupressif hastalığı olanlarda ciddi enfeksiyonlara yol açabilmektedir (Buckwalter ve ark., 2012).

AdV'lar; litik, latent ve onkojenik enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Litik enfeksiyonda; viral replikasyon epitelyal hücrelerde olur. Virusun lenfoid dokularda latent kalması sonucu latent enfeksiyon gelişir ve bağışıklık sisteminin baskılanması durumunda reaktivasyon ile hastalık tablosu gelişir. Onkojenik transformasyon ise viral DNA'nın hücre DNA'sına entegrasyonu sonrası gerçekleşir. Bu durum hücre tarafından sentezlenen proteinlerin AdV'a ait olması ile tanımlanır (Irving ve ark., 2004).

Solunum yolu enfeksiyonları; AdV'lar ateşli solunum yolu hastalığı olan küçük çocuklarda en sık izole edilen viruslardır. Hastalık bulguları 2 haftaya kadar

uzayabilmekle birlikte sıklıkla 5-7 gün sürer. Bakteriyel süperenfeksiyonlar gelişebilir. Farenjit, konjunktivit, otitis media, tonsillit, bronşit, pnömoni gibi klinik hastalık tablosuna neden olabilmektedir. Ateş, baş ağrısı, halsizlik, kas ağrısı ve karın ağrısı sık görülen sistemik bulgular arasındadır (Dominguez ve ark., 2005). Eksudatif tonsillit ve servikal lenfadenopatinin eşlik ettiği durumlarda grup A beta hemolitik streptokok enfeksiyonları ile karıştırılabilir. Pnömoniye yol açan AdV serotipleri arasında tip 1, 2, 3, 4, 5, 7, 14, 21 ve 35 bulunmaktadır (Tabain ve ark., 2012). Grup B de bulunan serotip 3, 7, 14 ve 21 ciddi pnömoniye neden olmaktadır. 2014 yılında Oregon’da 198 kişiyi etkileyen, bunların %69’unda hastane yatışını gerektiren ve 5 kişinin ölümüne neden olan, AdV serotip 7 ilişkili toplum kaynaklı ciddi solunum yolu hastalığı salgını bildirilmiştir (Scott ve ark., 2016). AdV enfeksiyonları genellikle <2 yaşta pnömoni ile ilişkilidir (Jain ve ark., 2015). Viral moleküler tanı yöntemlerinin geliştirilmesi ve daha sık kullanılmaya başlanması ile birlikte Adenoviral pnömonilerin ayırıcı tanısı yapılabilmekte, bu da küçük çocuklarda ve özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda hasta yönetimine katkı sağlamaktadır.

Genç erişkinlerde özellikle kalabalık ortamlarda yaşayanlarda ve askeri birliklerde ateş, ses kısıklığı, konjunktivitis, öksürük ile karakterize akut solunum yolu hastalığına ve ayrıca nadiren ölüme yol açabilen pnömonitis tablosuna neden olabilmektedir (Control and Prevention, 2007). Grup E’de yer alan tip 4 ve B grubunda bulunan tip 3, 7, 11, 14 ve 21 ile ilişkili akut solunum yolu hastalığı salgınları bildirilmiştir (Kajon ve ark., 2018).

Göz Enfeksiyonları; ateş, farenjit, servikal adenit ve konjunktivit ile karakterize faringokonjunktival ateş tablosuna neden olabilmektedir. Özellikle yaz kamplarında yüzme havuzu ilişkili salgınlar bildirilmiştir (Foy ve ark., 1968). B grubu adenoviruslardan en sık serotip 3 ve 7 bu tabloya yol açmaktadır.

D grubunda yer alan serotip 8, 19 ve 37 ise çok daha ciddi bir klinik tablo olan epidemik keratokonjunktivite neden olmaktadır. Virus cansız yüzeylerde 35 güne kadar canlılığını sürdürebilmektedir (Azar ve ark., 1996). Kontamine medikal malzemeler, eller ve göz yaşı teması ile iş yerlerinde ve hastanelerde kişiler arasında bulaş görülebilir (King ve ark., 2013).

Gastrointestinal Sistem Enfeksiyonları; küçük çocuklarda akut ishal ile seyreden hastalıkların %5-10'undan adenovirus grup F de yer alan serotip 40 ve 41 sorumludur. Genellikle sulu ve kansız ishale neden olur. Mikroskopik incelemede lökosit görülmez. Hafif ateş yüksekliği, kusma ve karın ağrısı görülebilir. 8-12 gün süren uzamış ishale neden olur (Flomenberg ve ark., 2018). Primer enfeksiyon sonrası aylarca dışkıda adenovirus saçılımı devam edebilmektedir.

Genito-Üriner Sistem Enfeksiyonları; B grubunda yer alan AdV serotip 11 ve 21 çocuklarda akut hemorajik sistit tablosuna neden olmaktadır (Mufson ve ark., 1976). Genellikle kendini sınırlayan bir klinik tabloya neden olmaktadır. İmmun yetmezliği olan hastalarda B grubunda bulunan AdV tip 11, 34 ve 35 hemorajik sistit ve tubulo interstisyel nefrite yol açabilmektedir (Ito ve ark., 1991).

Diğer Enfeksiyonlar; Adenoviral enfeksiyonlar ile ilişkili primer enfeksiyon olarak veya ciddi pnömoniye sekonder gelişen özellikle grup B serotip 7 ile ilişkili nadir de olsa menenjit ve ensefalit bildirilmektedir (Frange, 2011).

Yine immün yetmezliği olan ve olmayan çocuklar ile kök hücre veya solid organ nakil alıcısı erişkinlerde AdV ilişkili dissemine enfeksiyonlar bildirilmiştir (Munoz ve ark., 1998). Viral miyozit ve miyokardit de bildirilmiştir (Martin ve ark., 1994). AdV grup D'de bulunan serotip 36 ile enfekte hayvanlarda vücut ağırlığının arttığı bildirilmiştir (Ponterio ve ark., 2015). Bazı insan çalışmalarında AdV serotip 36 antikoru varlığı ile obezite arasında ilişki bulunmuştur (Xu ve ark., 2015).

Bovine Adenovirus (BAdV) Enfeksiyonları sığır solunum ve sindirim sisteminde subklinik enfeksiyon veya hastalık tablosuna yol açabilmektedir (Fulton RW, 2009). BAdV-1 kerato-konjunktivit ve solunum yolu enfeksiyonuna neden olabilmektedir. Hatta enfeksiyon bulgusu olmayan sığırlardan birçok suş izole edilebilmektedir (Uzal ve ark., 2016). BAdV hemorajik kolit etkeni olarak bilinmektedir. Solunum yolu enfeksiyonlarındaki rolleri tartışmalıdır. Epitelotropik BAdV nadiren bakteriyel pnömonisi olan sığırlarda izole edilebilmekte, siliyer epitel hasarına ve bazı türlerinde

alveolar makrofaj hasarına yol açarak bakteriyel pnömoniye zemin hazırlayabileceği düşünülmektedir (Caswell ve ark., 2016). Deneysel olarak BAdV ile enfekte edilen sığırlarda ılımlı solunum yolu hastalığı gelişmekte olup, hastalık ciddiyetinin BAdV suşuna ve sığırın immunitesine bağlı değiştiği bildirilmektedir (Caswell ve ark., 2016). BAdV serotip 3, 4, 7 ve 10 enterik hastalık ile ilişkilidir. Başlangıçta görülen viremik faz sonrasında virus çeşitli organların damar endotel hücrelerine lokalize olarak, tromboz ve fokal iskemik nekroza yol açabilmektedir (Uzal ve ark., 2016). Enterik enfeksiyonlar 1-8 haftalık sığırlarda sporadik olarak görülebilir. Etkilenen hayvanlarda ateş yüksekliği ve kanlı ishal görülebilir. Bazı hayvanlarda dizanteriye bağlı ölüm gözlenebilir (Uzal ve ark., 2016).

Ovine Adenovirus (OAdV) Enfeksiyonları koyunlarda gelişen OAdV enfeksiyonları hakkında çok az veri mevcuttur. AdV' lar sağlıklı koyunlardan ve solunum bulguları olan kuzulardan izole edilebilmektedir (Bauer ve ark., 1975; Sharp, 1977). OAdV sıklıkla solunum sistemi enfeksiyonlarına, nadiren de enterit gibi intestinal sistem enfeksiyonlarına da yol açabilmektedir (Belak ve ark., 1980). Doğal enfeksiyon seyri tam bilinmemekle birlikte, deneysel enfeksiyonlarda da viral replikasyona rağmen belirgin bir klinik hastalık tablosu gelişmediği bildirilmiştir. Deneysel enfeksiyonlar sonrası nazal sürüntülerde 1-8 gün, rektal sürüntülerde 3-9 gün saçılımın devam ettiği gözlenmiştir (Sharp ve ark., 1976; Martin, 1983)

1.4. Adenovirusların Tanısı

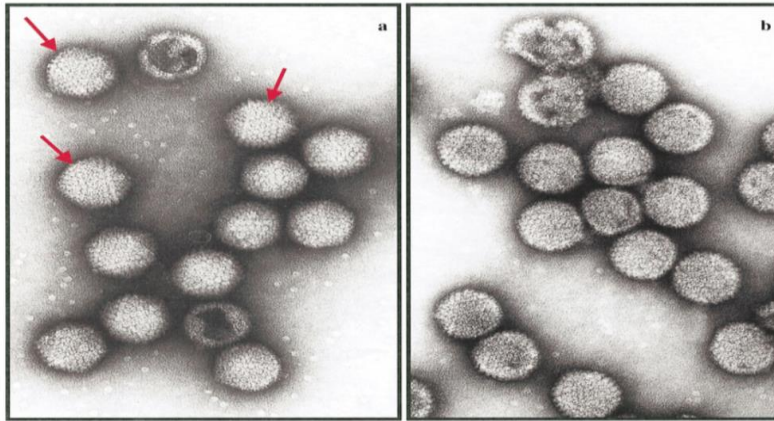
AdV enfeksiyonlarının farklı sistemleri etkilemesi ve nonspesifik klinik bulgulara yol açması nedeniyle klinik tanı konulması zordur. Adenoviral enfeksiyonların tanısının konulması; tedavi edilebilir diğer enfeksiyonların dışlanması, prognozun öngörülmesi, ciddi klinik bulgular varlığında tanının doğrulanması, salgın durumunda enfeksiyon etkeninin ortaya konması ve uygun kontrol önlemlerinin alınması için gereklidir. Tanıda; viral kültür/izolasyon, elektron mikroskopisi (EM), antijen testleri, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve serolojik tanı testleri kullanılabilir (Mandell ve ark., 2009; Allard ve ark., 2011).

1.4.1.Virus İzolasyonu

Tanıda altın standart olup, insan serviks karsinomu (HeLa), insan larinks epidermoit karsinomu (HEp-2) ve primer insan embriyonik böbrek (HEK) hücreleri gibi insan epitelyal hücre dizilerinde ortalama 2 -7 günde (bazı tiplerde 28 günde) sitopatik etki (CPE) oluştururlar (Kowalski ve ark., 1989). Örnekler semptomların ortaya çıkmasından sonra erken dönemde uygun enfeksiyon bölgesinden alınmalı ve soğuk zincir kurallarına dikkat edilerek (2-8°C) laboratuvara ulaştırılmalıdır.

1.4.2. Elektron Mikroskopi

Klinik örnekte yeterli miktarda (10^4 - 10^5 /ml) AdV partikülü varlığında viral partiküllerin veya çekirdekte oluşturdukları karakteristik yapıların tespiti ile tanı konulabilir. Klinik örneğin santrifüje edilmesi ile konsantrasyonun artırılması duyarlılığı artırabilmektedir (Nalça, 2012). Elektron mikroskopi ile tanı hızlı konulabilmekte ancak pahalı olması ve deneyim gerektirmesi klinik pratikte kullanımını kısıtlamaktadır.



Şekil 1.3. Adenovirusun elektron mikroskop görüntüsü (Schnell ve ark., 2001).

1.4.3. Antijen Saptama

Solunum ve gastrointestinal sistem enfeksiyonlarının tanısında; genellikle hexon proteininin korunmuş bölgelerine karşı geliştirilen monoklonal antikorlar kullanılarak antijen saptama testleri uygulanabilmektedir. Immunfloresan (IF) veya enzim immunoassay (EIA) temelli, duyarlı ve hızlı sonuç alınabilen ticari testler bulunmaktadır. Özellikle solunum sistemi örneklerinde tercih edilebilen direkt floresan antikor (DFA) testleri %40-60 duyarlılığa ve %99 özgüllüğe sahip ve ucuz testlerdir ancak deneyim gerektirmesi testin kullanımını sınırlamaktadır (Munoz ve ark., 2018). EIA veya lateks aglütinasyon testleri ise hücre kültürlerinde üretilmeyen ve gastroenterite neden olan AdV tip 40 ve 41'in tanısında kullanılabilmektedir (Terletskaja-Ladwig ve ark., 2007).

1.4.4. Nükleik Asit Saptama Testleri

Klinik örneklerde AdV DNA'sı amplifikasyon yöntemleri (PCR, ligaz zincir reaksiyonu), hibridizasyon yöntemleri (southern blot, dotblot vb.), dizi inceleme yöntemleri (sekans analizi, restriksiyon enzim analizi (REA)) gibi farklı moleküler testler ile tespit edilebilmektedir. Özellikle immün sistemi baskılanmış bireylerde ciddi enfeksiyonlara yol açması ve göz enfeksiyonlarında yüksek bulaştırıcılığı olması nedeniyle (salgınların önlenmesi bakımından hızlı tanı konması ile enfeksiyon kontrol önlemlerinin hızla alınması bakımından) duyarlı ve hızlı sonuç veren PCR son zamanlarda en sık kullanılan yöntemler arasında yerini almıştır (Sarantis ve ark., 2004).

PCR, çeşitli klinik örneklerden AdV DNA'sının tespitinde oldukça duyarlı ve spesifik bir yöntemdir. Normalde steril olan kan, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve dokulardan tespiti anlamlı iken, üst solunum sistemi ve dışkı örneklerinden tespiti durumunda viral saçılımı da gösterebileceğinden klinik bulgularla birlikte dikkatli yorumlanmalıdır. Ticari PCR kitlerinde, çoğu serotipi tespit edebilecek primerler veya probalar kullanılmaktadır (Damen ve ark., 2008). İmmünsüpresif bireylerde AdV DNA'sının kantitatif olarak tespiti, prognoz (invaziv hastalık riski ve mortalitenin) öngörülmesinde ve antiviral tedavi yanıtının izlenmesinde yararlıdır (Lancker ve

ark., 2002). PCR ayrıca adenovirus izolatlarının genotip tayininin yapılması için sekans analizi ile birlikte kullanılabilir.

Nükleotid Dizi Analizi, AdV'ların tiplendirilmesinde sık kullanılan moleküler yöntemler arasında yer almaktadır. DNA sekans analizi (DNA “sequencing”) DNA'nın içerdiği nükleotid dizilerinin tespit edilmesini tanımlamaktadır. Maxam-Gilbert kimyasal degradasyon yöntemi ve Sanger'in 2-3 dideoksi enzimatik yöntemi nükleotid dizilerinin belirlenmesinde kullanılan 2 temel teknik olarak sayılabilir (Munoz ve ark., 2018; Maxam ve ark., 1977). Günümüzde sıklıkla Sanger'in enzimatik DNA sentezi prensibine dayalı zincir sonlanma yöntemini kullanan otomatize DNA sekans analiz yöntemleri kullanılmaktadır. Otomatize sistemler standardizasyonu sağlaması yanı sıra zaman tasarrufu da sağlamaktadır. AdV hexon HVR-7 gen bölgesinin PCR ile amplifikasyonu ve sekanslaması tiplendirmede kullanılmaktadır (Takeuchi ve ark., 1999).

AdV tiplerinin belirlenmesi epidemiyolojik çalışmalar, patogenez ile ilişkili araştırmalar ve ciddi seyirli klinik tabloya neden olan tiplerin belirlenmesi amacıyla yapılabilmektedir. Nötralizasyon testleri ve hemaglutinasyon-inhibisyon testleri serotiplerin belirlenmesinde kullanılabilen zahmetli ve zaman alıcı serolojik yöntemlerdir (Sarantis ve ark., 2004). Bununla birlikte, son yıllarda daha kolay ve hızlı uygulanabilen moleküler yöntemler ile genotipler belirlenebilmektedir. Serolojik olarak tiplendirme yapılabilmesi için o tipe özgü serum ve izolata ihtiyaç duyulmaktadır. Moleküler yöntemler ile tiplendirme ise klinik örneklerden veya elde edilmiş izolatlardan yapılabilmektedir. PCR sonrasında dizi analizi veya REA yöntemleri ile genotip belirlenmesi mümkündür (Allard ve ark., 2001). Nükleik asit temelli testlerde E1A ve E1B, fiber ve hekzon bölgelerine yönelik grup veya tip spesifik primerler kullanılabilir (Sarantis ve ark., 2004). Hekzon primerleri tüm adenovirus serotipleri ile reaksiyon vermesi nedeniyle en sık kullanılan primerlerdir (Kojaoghlanian ve ark., 2003). Hekzon gen bölgesi tüm HAdV tiplerinde ortak antijenik yapıları ve nötralizan antikorları uyaran tipe özgül bölgeleri içermekte olup ortalama 2841 baz çifti büyüklüğündedir. Hekzon geni santralde yer alan yedi farklı çok değişken bölge (“Hypervariable Region”-HVR-7) ve bunu çevreleyen 2 adet

yüksek düzeyde korunmuş bölge olmak üzere, üç farklı segmentten oluşur. Adenovirusun serotip-spesifik sekansları hekzon geninin HVR-7 bölgesinde yer almaktadır (Imai ve ark., 2001).

Restriksiyon Enzim Analizi (REA); virusların aile, tür veya alt tipleri arasında genom özellikleri ve genetik dizilimi farklılık göstermektedir. Restriksiyon endonükleaz (RE) enzimi aracılığıyla elde edilen amplikonların kesilmesi ile genomik yapıdaki farklılıklar tespit edilebilmektedir. REA; Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) veya Pulse Field Gel Electrophoresis (PFGE) gibi nükleik asit temelli yöntemler sık kullanılan moleküler tiplendirme yöntemleri arasında yer almaktadır (Munoz ve ark., 2018).

1.4.5. Nötralizasyon Testleri

Testin uygulanabilmesi için; tipe özgü antikor içeren bağışık serum kullanımı gerekir. Şüpheli virusun homoloğu antikorla nötralize edilmesi prensibine dayanır. Zahmetli, deneyim gerektiren ve zaman alıcı bir test olmakla birlikte; serolojik tanıda “altın standart” kabul edilmektedir (Munoz ve ark., 2018).

AdV serotiplerinin belirlenmesi için öncelikle alt grubunun belirlenmesi gerekli olup, bu amaçla hemaglutinasyon testi kullanılmaktadır. Bundan sonraki aşamada serolojik temelli hemaglutinasyon inhibisyon testi kullanılarak spesifik serotipler belirlenebilir. Testin uygulanabilmesi için hastalığın akut ve konvalesan evresine ait serum örneklerine, eritrosit süspansiyonuna ve titre edilmiş standart antijene ihtiyaç duyulur (Munoz ve ark., 2018).

1.5. Adenovirus Enfeksiyonlarında Tedavi ve Korunma

Adenoviral enfeksiyonlar sıklıkla kendini sınırlar ve destek tedavisi yeterlidir. Bununla birlikte yenidoğanlarda ve immün sistemi baskılanmış bireylerde fatal seyirli enfeksiyonlar görülebilmektedir.

Cidofovir, AdV enfeksiyonlarının tedavisinde en sık kullanılan ajan olmakla birlikte ciddi nefrotoksisite yan etkisi olması kısıtlılığdır. Cidofovir lipid ester formu olan Brincidofovir henüz araştırma aşamasında olan bir ilaç olup, nefrotoksisite riski daha düşüktür (Munoz ve ark., 2018). Adenoviral hastalıkların tedavisinde etkinliği randomize kontrollü çalışmalar ile kanıtlanmış bir antiviral bulunmamaktadır.

Cidofovir in vitro olarak diğer antiviral ajanlara göre daha etkilidir. Real time PCR ile in vivo olarak ta viral yükü azalttığı gösterilmiştir. Kemik iliği nakil alıcılarında ve akciğer transplant hastalarında klinik iyileşme ve mortalitede azalma sağladığı bildirilmektedir (Neofytos ve ark., 2007). Gansiklovir in vitro çalışmalarda ve hamster modelinde sınırlı etkinlik gösterdiği bildirilmektedir (Ying ve ark., 2014).

AdV enfeksiyonlarından korunmada enfeksiyon kontrol önlemleri ve belirli durumlarda aşılama uygulanabilmektedir. Askeri birliklerde HAdV tip 4 ve 7'ye karşı enterik kaplı canlı oral aşı yıllarca kullanılmıştır (Top ve ark., 1971). Askeri kamplarda akut solunum yolu hastalığı salgınlarının önlenmesinde etkili ve güvenlidir. 1990'lı yıllarda üretici firma aşı üretimini durdurdu. 2011 yılında HAdV tip 4 ve 7'ye karşı etkili yeni canlı oral aşı 17-50 yaş Amerikan askeri personelinin kullanımı için onay aldı (Hoke ve ark., 2013). Takip eden 2 yıl içerisinde Amerika askeri personeline adenoviral hastalık sıklığında 100 kat azalma gözlemlendi (Radin ve ark., 2014).

AdV'lar rekombinant aşı vektörü olarak kullanılmasına rağmen, büyük ve küçük ruminantlarda enfeksiyona yol açan AdV'lar için lisanslı bir aşı bulunmamaktadır (Fulton, 2009).

1.5.1. Enfeksiyon Kontrol Önlemleri

AdV'lar çevresel yüzeylerde uzun süre canlı kalabilirler ve sık kullanılan alkol vb. dezenfektanlara duyarlı değildir (Buehler ve ark., 1984). Bu nedenle çevre yüzey ve ekipmanların temizliğinde sodyum hipoklorit, formaldehit, ısı gibi spesifik uygulamalara ihtiyaç duyulur. Yüzme havuzu kaynaklı faringokonjunktival ateş salgınları sıklıkla yetersiz klorlama ile ilişkilidir (D'Angelo ve ark., 1979).

AdV'a bağlı sağlık bakımı ilişkili enfeksiyonlar da görülebilmektedir. El hijyenine yeterince dikkat edilmemesi sonucu sağlık çalışanlarının elleri aracılığıyla gelişen ya da kontamine ekipmanın yetersiz dezenfeksiyonu sonucu epidemik keratokonjunktivit salgınları bildirilmiştir (Jernigan ve ark., 1993). Konjunktivitli hastanın göz muayenesi sırasında eldiven kullanımı, el hijyeni sağlanması (temas izolasyon önlemlerine uyulması) ve medikal ekipmanların %10 sodyum hipoklorit ile dezenfeksiyonu önerilmektedir. Solunum yolu enfeksiyonu olan ve hastane yatışı gereken hastalara temas ve damlacık izolasyon önlemlerinin alınması önerilmektedir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Tez Numuneleri ve Pozitif / İnternal Kontroller

Doktora tez çalışması kapsamında, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Numune Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Etik Kurulu Kararı (No: E-17-1348) (Ek-1) ile tez çalışması planlandı. SBÜ Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu'na sunularak proje desteği alındı (Proje destek no: 2017-0024).

Türkiye'nin farklı illerinden sentinel ve non-sentinel surveyans kapsamında 2015-2016 yılları arasında çeşitli illerden THSK'ya gönderilen solunum yolu örneklerinden AdV PCR pozitif tespit edilen 68 örneğe ait ekstraktlar temin edildi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı'na soğuk zincir altında ulaştırıldı. PCR ve DNA dizi analizi yapılan kadar numune ekstraktları -80 °C'de saklandı. Ayrıca Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı virus stoklarında bulunan 4 adet koyun ve 3 adet sığır orijinli AdV'lar; PCR optimizasyon çalışmalarında, pozitif/internal kontrol ve farklı türlere ait hexon gen bölgesi dizin analizlerinin karşılaştırılması amacıyla tez kapsamında değerlendirildi.

THSK'dan temin edilen örnekler ve ilgili bilgiler Çizelge 3.2'de verilmiştir. Sentinel örnekler olarak alınan nazal sürüntüler; ayaktan aile hekimlerine başvuran daha hafif olgular iken, non sentinel örnekler hastanelerden gönderilen daha çok alt solunum yolu hastalığı bulguları (ateş, öksürük, balgam vb) olan hastaları kapsamaktadır ve bunlar genellikle nazofarenks sürüntü örneklerini içermektedir.

2.1.2. Tez Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeleri

Tez çalışmasında kullanmak üzere temin edilen kimyasal ve sarf malzemeleri aşağıda listelenmiştir.

- ✓ Dream Taq DNA Polymerase (parsiyel hexon geni analizi için) (Katalog no. 00563987)
- ✓ Phusion High-Fidelity (tam hexon geni analizi için) (Katalog no. 00652183)
- ✓ 100 bp DNA Ladder (Katalog no. SM0321)
- ✓ Pipet tip yellow
- ✓ Pipet tip blue
- ✓ Pipet p10
- ✓ PCR-CP transp 0,2 ml
- ✓ Mikro santrifüj tüpü DNase RNase free 1,5 ml
- ✓ dNTP mix
- ✓ Agaroz Jel
- ✓ Deionize su - Water molecular biology grade

2.1.3. Kitler

Tez çalışmasında sekans analizi için kullanılan pürifikasyon kitleri aşağıda belirtilmiştir.

- ✓ Extract me DNA Clean-Up Kit (Blirt)
- ✓ Purelink Quick Gel Extraction Kit (İnvitrogen)

2.1.4. Cihazlar

Tez çalışmasındaki araştırmalar Ankara Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Viroloji Anabilim Dalı envanterinde bulunan cihazlar ile yapılmıştır:

- ✓ Metis Lab Biyogüvenlik II Kabini
- ✓ Vera Scientific Vortex
- ✓ Sigma Mikro Santrifüj 1-14k (Michael Christ design)
- ✓ Biometra 96-well Gradient Thermal Cycler (Analytik Jena, Almanya)
- ✓ Kyratec 96-well Gradient Thermal Cycler (Kyratec Inc., Avustralya)
- ✓ Cleaver® Scientific Elektroforez Seti
- ✓ Kodak 1D Gel Logic Kamera
- ✓ UV Transilluminator
- ✓ +4 °C Buzdolabı
- ✓ -20 °C Derin dondurucu
- ✓ -80 °C Derin dondurucu

2.2. Yöntem

2.2.1. Viral Nükleik Asit İzolasyonu

Türkiye'nin farklı illerinden sentinel ve nonsentinel surveyans kapsamında çeşitli illerden gönderilen solunum yolu örneklerinin ekstraksiyonu, THSK'da otomatize Qiagen EZ1 Advanced XL Ekstraksiyon Cihazı (Qiagen, Germany) ve Qiagen EZ1Virus Mini Kit v2.0 (Qiagen, Germany) ekstraksiyon kiti kullanılarak üreticinin talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. 20 viral parametrenin eşzamanlı incelendiğı gerçek zamanlı multipleks PCR yöntemi (Fast Track Diagnostics Respiratory Pathogens 21, Luxemburg) ile ve Applied Biosystems 7500 (ABI 7500) cihazı ile RNA/DNA varlığı araştırılmıştır. Bu örnekler arasından tanımlanan yöntemler ile HAdV PCR pozitifliğı tespit edilen 68 örneğe ait ekstraktlar tez çalışmamızda kullanılmak üzere temin edildi. Ankara Üniversitesi Veteriner

Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı'na soğuk zincir altında ulaştırılarak, PCR ve DNA dizi analizi yapılana kadar numune ekstraktları -80 °C'de saklandı.

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı virus stoklarında bulunan 4 adet koyun ve 3 adet sığır orijinli AdV'un konvansiyonel yöntemler ile ekstraksiyonu yapıldı. DNA ekstraksiyonu için kullanılan konvansiyonel yöntemle ait uygulama protokolü aşağıda belirtilmiştir:

- ❖ 1.5 ml'lik eppendorf mikrotüplere 300 µl numune ve eşit hacimde Denaturasyon solüsyonu (Solusyon D) konuldu.
 - ❖ Karışım; 15 sn vortekslenerek üzerine 300 µl Alkali Fenol ve 300 µl Kloroform/İzoamilalkol (24:1) eklendi.
 - ❖ 15 sn vortekslemenin ardından 12000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.
 - ❖ Santrifüj sonrası üstte kalan sıvıdan 700 µl alınarak yeni bir eppendorf tüpüne konuldu.
 - ❖ Üzerine eşit hacimde (700 µl) -20 °C'de soğutulmuş İzopropil alkol ve 100 µl 3M Na-acetate eklenerek tüp kapatıldı ve 10 sn vortekslendi.
 - ❖ Karışım -80 °C'de 1 saat bekletildi.
 - ❖ Süre sonunda oda ısında çözülmesi beklenen tüpler, 10000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.
 - ❖ Üstteki sıvı dikkatlice alındıktan sonra 300 µl %70 Etanol (ETOH) ile yıkandı ve tekrar 12000 rpm'de 2-3 dk santrifüj edildi.
 - ❖ ETOH aspire edildikten sonra, 37 °C'de kurutulan pelletlere 20 µl steril distile su ilave edildi ve resüspanse edilerek spektrofotometrede DNA miktarları ölçüldü.
- Elde edilen viral DNA'lar, PCR işlemi yapılana dek -80 °C'de saklandı.

2.2.2. AdV Tanısı ve Moleküler Karakterizasyonuna Yönelik Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

AdV tanısı ve moleküler karakterizasyonu amacıyla seminested-PCR uygulanmıştır. AdV Hexon gen bölgesini çoğaltan ve genus spesifik geniş spektrumlu primer çiftleri kullanılmıştır (Sibley ve ark., 2011). Ayrıca seçilen örneklerde, hexon geni tam genom analizi yapılabilmesi amacıyla tüm geni hedefleyen primerler de

kullanılmıştır (Yu ve ark., 2013). PCR testinde bu gen bölgelerini tanımaya yönelik kullanılan primerlere ait ayrıntılı bilgiler Çizelge 2.1 ve 2.2’de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. AdV tanısı ve parsiyel sekans analizi için kullanılan primer dizinleri

Primerler	Hedef Bölge	Dizin (5'→3')	Referans
MaAdF1	599-725bp /588-714bp	CAGTGGTCHTACATGCACATC	Sibley ve ark.,2011
MaAdR		GCATAAGACCCGTAGCAWGG	
MaAdF2		CATGCACATCGCSGGNCAGGA	

Çizelge 2.2. AdV hexon geni tam genom analizi kullanılan primer dizinleri

Primerler	Hedef Bölge	Dizin (5'→3')	Referans
AdV 7 hexon 1F- (nt 18186 - 18210)	1265 bp	GCGCCGTCGCTGCTATTAATTAAAT	Yu ve ark., 2013
AdV 7 hexon 1R- (nt 19450 - 19428)		GTCCATAGCCTGATTCCACATGC	
AdV 7 hexon 2F- (nt 19347 - 19367)	1194 bp	GTGGTTGACTTGCAGGACAGA	
AdV 7 hexon 2R- (nt 20540 - 20520)		GCATTGGGCCACATTGTATCC	
AdV 7 hexon 3F- (nt 20466 - 20487)	902 bp	AGTCAGCTGGCCTGGCAATG	
AdV 7 hexon 3R- (nt 21368 - 21349)		AAAGCCAGCCAGTGCTCTCC	

PCR’da kullanılan karışımların içerikleri ve uygulanan ısı döngüleri Çizelge 2.3, 2.4 ve 2.5’te verildi. Tüm bu işlemler için termal döngü cihazı (Biometra, Almanya) kullanıldı.

Çizelge 2.3. Mast Adenovirus primerleri için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) karışımı.

Komponent	Miktar
10 X DreamTaq Buffer	3 µl
MgCl ₂ 25 mM	0.6 µl
Nucleotide Mix 10 mM dNTP	0.6 µl
Forward Primer	1 µl
Reverse Primer	1 µl
DreamTaq DNA Polymerase	0.2 µl
DNA	3 µl
Moleküler Deiyonize su	20.6 µl
TOPLAM	30 µl

Çizelge 2.4. HAdV Hexon tam genom analizi için PCR komponent karışım miktarları

Komponent	Miktar
5 X Phusion Buffer	4 µl
DMSO	0.6 µl
MgCl ₂ 50 mM	0.6 µl
Nucleotide Mix 10 mM dNTP	0.6 µl
Forward Primer	1 µl
Reverse Primer	1 µl
Phusion DNA Polymerase	0.2 µl
DNA	2 µl
Moleküler Deiyonize su	10 µl
TOPLAM	20 µl

Çizelge 2.5. AdV’a ait ilgili primerlere ait PCR döngü protokolleri

Reaksiyon	Parsiyel <i>hexon gen</i> bölgesi için 1. ve 2. Tur PCR döngüleri	<i>HAdV</i> Komple <i>hexon gen</i> bölgesi AdV 7 hexon 1F 1R Primerleri için PCR döngüleri	<i>HAdV</i> Komple <i>hexon gen</i> bölgesi AdV 7 hexon 2F 2R ve 3F 3R Primerleri için PCR döngüleri
Başlangıç Denaturasyonu	96 °C- 5 dk	94 °C- 3 dk	94 °C- 3 dk
Döngü (35 siklus)	94 °C- 1 dk 55 °C- 2 dk 72 °C-1 dk	94 °C- 30 sn 52 °C- 30 sn 72 °C- 1 dk 45 sn	94 °C- 30 sn 56/58 °C- 30 sn 72 °C- 1 dk 45 sn
Son Uzama	50 °C- 1dk	50 °C- 1dk	50 °C- 1dk
	72 °C- 10 dk	72 °C- 7 dk	72 °C- 7 dk

2.2.3. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi

PCR ile elde edilen ampliconların görüntülenmesi amacıyla, ethidium bromide içeren (Sigma, ABD) %1,5’lik agaroz jel (Prona, EU) hazırlandı. 10xTAE (Tris Asetat-Ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA)), hem tank tamponu olarak ve hem de agaroz jel hazırlanması için kullanıldı. Agaroz 0,5xTAE solüsyonu içine konularak ısı yardımıyla (mikro dalga fırın) çözülüp soğutulduktan sonra, üzerine 0,5 µg/ml ethidium bromide (Sigma, ABD) eklendi. Jel tarakları da yerleştirilen küvete karışım dökülerek 15- 20 dakika katılaşması için çeker ocak içinde bekletildi. Hazırlanan agaroz jel katılaştıktan sonra, jel tarakları çıkartılarak 0,5xTAE tampon bulunan elektroforez tankına yerleştirildi.

Elde edilen PCR ürünleri, ürün başına 1 µl yükleme boyası (6x Loading Dye, Jena, Almanya) ile karıştırılarak jele yüklendi. Ürün büyüklüğünün belirlenebilmesi için kenardaki kuyucuklara 100 bp’lik marker (Jena Bioscience, Almanya) solüsyonundan 1 µl yüklendi. Elektroforez işlemi 16 Volt/cm elektrik akımında yaklaşık 20 dakika süreyle gerçekleştirildi. Bant görüntüleri UV ışık altında Jel

görüntüleme sistemi (Kodak, Gel Logic 100) kullanılarak bilgisayar ortamına aktarıldı.

2.2.4. Amplikonların Purifikasyonu

PCR ile elde edilen amplikonlar, görüntülendikten sonra sekans analizine gönderilmeden önce saflaştırma işlemi gerçekleştirildi. PCR sonucunda beklenen büyüklükte tek bir bant elde edilmişse “clean-up” kiti (Extractme® DNA Clean-up Kit) buna karşın beklenen bant dışında farklı bantlar da var ise, ticari “gel extraction” kiti (Purelink®, Quick Gel Extraction Kit, USA) kullanıldı. Kullanılan kite ait uygulama protokolü aşağıda belirtilmiştir.

Jel Ekstraksiyon Protokolü

- Görüntülenen spesifik bant steril bisturi ile, %1’ lik agaroz jelden kesilerek ependorf tüplere konuldu.
- Ağırlıkları tartılan bantların ağırlığının 3 katı ölçüde “Gel solubilization” solüsyonu eklendi.
- 50°C’de 10dk bekletilerek, ependorf tüpün içindeki jelin erimesi sağlandı.
- Filtrelere alınan sıvılar 12000xg devirde 1 dk santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası süzülen kısım atıldı. Filtre üzerine 500µl etanol içeren Wash Buffer (yıkama solüsyonu) konularak tekrar 12000xg de 1 dk santrifüj yapıldı.
- Santrifüj sonrası süzülen kısım atıldı. Etanolün iyice uçması ise filtreler boş olarak maksimum hızda 1 -2 dk santrifüj edildi.
- Steril ependorfa alınan filtrelere 50 µl “elution buffer” eklendi.
- 1 dk oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 12000xg de 1 dk santrifüj edildi.
- Elde edilen amplikonlar kontrol amacıyla tekrar agaroz jelde yürütülerek, uygun olduğu tespit edilenler sekans analizine kadar -20°C’de saklandı.

Clean-up Protokolü

- PCR reaksiyonu sonucu elde edilen ürün miktarının 2 katı “Binding Buffer” konuldu.
- Filtrelere alınan sıvılar 11000xg devirde 30 sn santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası süzülen kısım atıldı. Filtre üzerine 700µl CW yıkama solüsyonu kondu ve tekrar 11000xg de 30 sn santrifüj yapıldı.
- Santrifüj sonrası süzülen kısım atıldı. Filtre üzerine 700µl CW yıkama solüsyonu kondu ve tekrar 11000xg de 30 sn santrifüj yapıldı.
- Santrifüj sonrası süzülen kısım atıldı. Etanolün iyice uzaklaştırılabilmesi için filtreler boş olarak 11000xg de 1 dk santrifüj edildi.
- Steril ependorfa alınan filtrelere 15 -30 µl “elution buffer” eklendi.
- 1 dk oda sıcaklığında bekletilen tüpler daha sonra 11000xg de 1 dk santrifüj edildi.
- Elde edilen ampliconlar kontrol amacıyla tekrar agaroz jelde yürütüldükten sonra, uygun olanlar tespit edilerek sekans analizine gönderilene kadar -20°C’de saklandı.

2.2.5. Dizin Analizi

Saflaştırılan ürünler dizin analizi yapılmak üzere, tez projesi kapsamında sağlanan hizmet alımı ile ticari bir firmaya (BM Labosis, Ankara) gönderildi. Dizin analizi Sanger metoduna göre yapılmış olup ABI 3130xl DNA Analyzer (Applied Biosystem, ABD) cihazı kullanıldı.

2.2.6. Moleküler *in silico* analiz, Karakterizasyon ve Filogenetik Ağaç Oluşturulması

Analiz sonrası elde edilen dizinler, National Center for Biotechnology Information (NCBI)'ın veri tabanında bulunan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) programına yüklenerek konfirme edildi ve ardından moleküler karakterizasyon işlemi gerçekleştirildi (Camacho ve ark., 2009).

Sekans analizi sırasında histogramları kontrol etmek amacıyla Molecular Evolutionary Genetic Analysis version 6.0 (MEGA 6.0v) programının “Tracer” bölümü kullanıldı (Tamura ve ark., 2013). Düzeltmeler yapıldıktan sonra aynı gen bölgesine ait dizinlerin çoklu hizalaması “Clustal W Alignment” kullanılarak yapıldı. Hizalama sonrası dizinlerin 5’ ve 3’ uçlarından kesilerek uzunlukları eşitlendi. Nükleotid bazlı değişiklikler izlenerek karşılaştırma yapıldı.

Tam genom analizi yapılmak üzere seçilen örneklerin 1265, 1194 ve 902 bazlık ürünler halinde kazanılan sekansları BioEdit programında birleştirilerek yaklaşık 2841 bazlık Hexon geni tam sekansları elde edildi.

Filogenetik analiz yapılması amacıyla, elde edilen sekansların yanına yine NCBI’ın altında yer alan GenBank veri tabanından referans dizinler alındı (Benson ve ark., 2015). BioEdit Programında yer alan Clustal W yöntemi ile hizalama işlemi yapılarak filogenetik analiz işlemine geçildi. Modelleme için “Find best DNA models” işlemi yapıldı. Modelleme sonrası Maximum Likelihood (ML) ağacı elde etmek için Maximum Likelihood istatistik metodu, Kimura-2 parametre modeli, GTR+G+I modellemesi ve 1000 bootstrap tekrarı seçildi. Tüm bu basamaklar sonrasında filogenetik ağaçlar elde edilerek genotiplendirme yapıldı.

Nükleotid bazlı benzerlik ve farklılık matriksi oluşturmak için MatGat 2.0 ve SDT v1.2 programı kullanıldı (Campanella ve ark., 2003; Muhire ve ark., 2014). Elde edilen veriler yüzdelik bazda Excel ve Matriks tablosu olarak elde edildi. Her iki

matriks tablosunu oluştururken blok değişim skorlama yöntemi olarak BLOSSUM50 seçilmiştir.

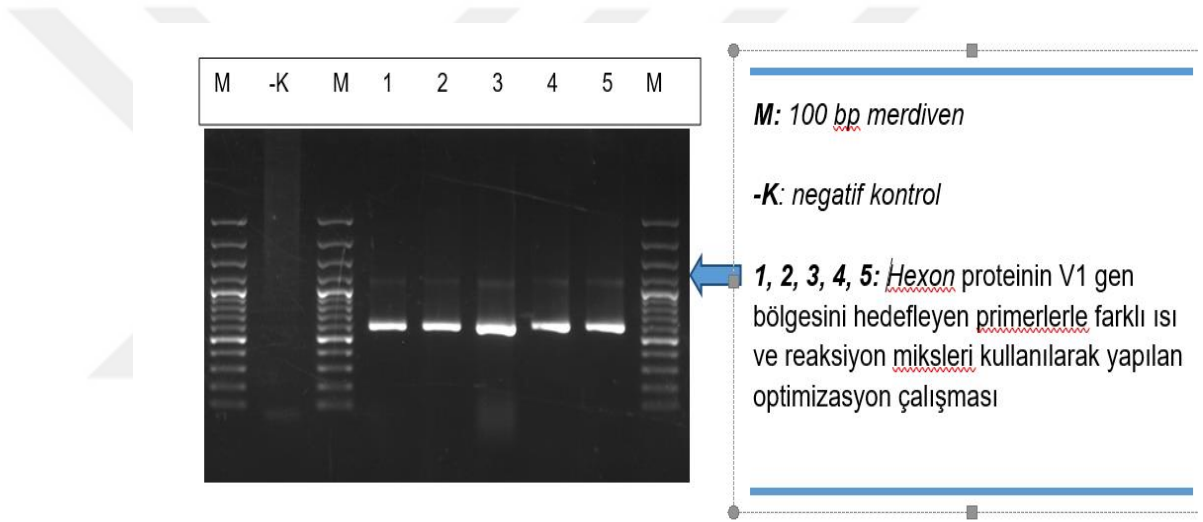
Tez alışması kapsamında moleküler ve filogenetik analiz yapılan tüm dizinler Banklt ara yüzü kullanılarak GenBank veri tabanına girildi (Benson ve ark., 2015). Elde edilen “Accession Number” bilgisi bulgular bölümünde sunuldu.



3. BULGULAR

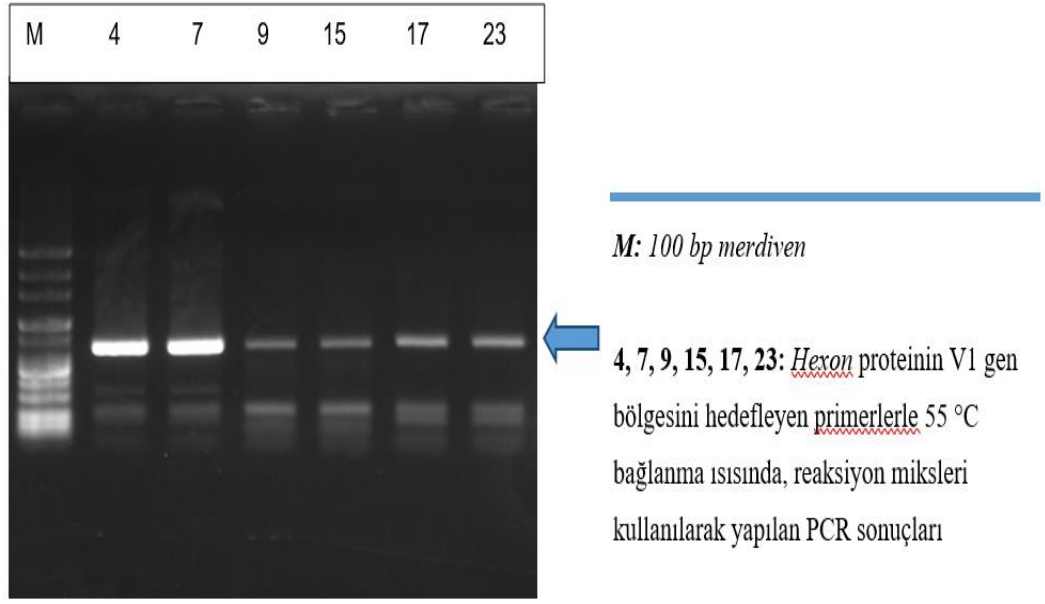
3.1. AdV Tanısı ve Moleküler Analiz Sonuçları

AdV tanısı için hexon geni HVR 1-6 bölgesine yönelik sentezlenen primerlerin optimizasyonu Gradient PCR yapılarak gerçekleştirilmiş olup primerlerin annealing (bağlanma) dereceleri Çizelge 2.5.'te verilmiştir. Bu derecede istenilen spesifik bantlar görüntülendi. Ovine Adenovirus (OAdV) kullanılarak yapılan optimizasyon çalışmasına ait jel görüntüsü Şekil 3.1 de görülmektedir.



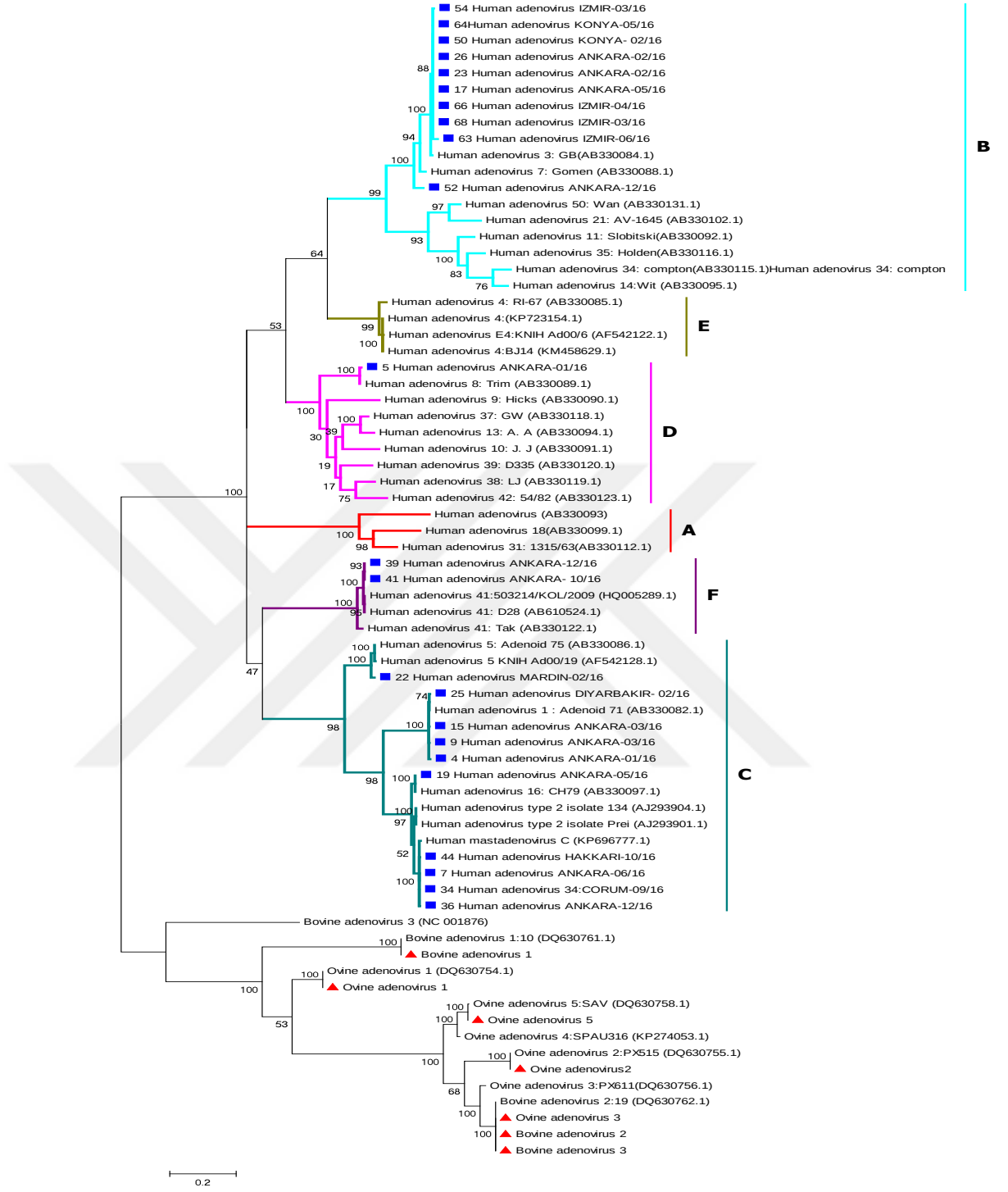
Şekil 3.1. OAdV kullanılarak yapılan optimizasyon çalışmasına ait PCR'ın jel görüntüsü

Tez çalışması kapsamında; 68 HAdV, 4 OAdV ve 3 adet BAdV olmak üzere toplam 75 numunenin ekstraktları ile yapılan PCR sonucunda 30 (% 40) örnekte beklenen ampliconlar (588-725 bp arasında değişen) elde edildi. Bu reaksiyonlara ait PCR görüntüsü Şekil 3.2'de sunulmuştur.



Şekil 3.2. HAdV hexon geni V1 bölgesine ait PCR görüntüsü.

Toplamda 30 pozitif AdV örneğinin (23 insan, 4 koyun ve 3 sığır) hexon geni yönünden parsiyel sekans analizi yapıldı. Elde edilen veriler GenBank veri tabanında dünyadaki AdV Hexon gen bölgesi dizinleri ile karşılaştırıldı. Mega programı (v.6 ve v.X) kullanılarak referans viruslar ile filogenetik analizleri yapılan örneklerin birbirleri ve dünyadaki mevcut Adenovirus tipleri ile olan ilişkileri Şekil 3.3'teki ağaçta görülmektedir (Tamura ve ark., 2013; Kumar ve ark., 2018). Filogenetik analiz sonuçlarına göre; farklı türlere ait AdV'lar türdeşleri ile yakın ilişkili bulundu. Bovine suşlar BAdV'lar ile ovine suşlar OAdV'lar ile human orijinli olanlar ise HAdV'lar ile komşu dallarda yer aldılar (Şekil 3.3).

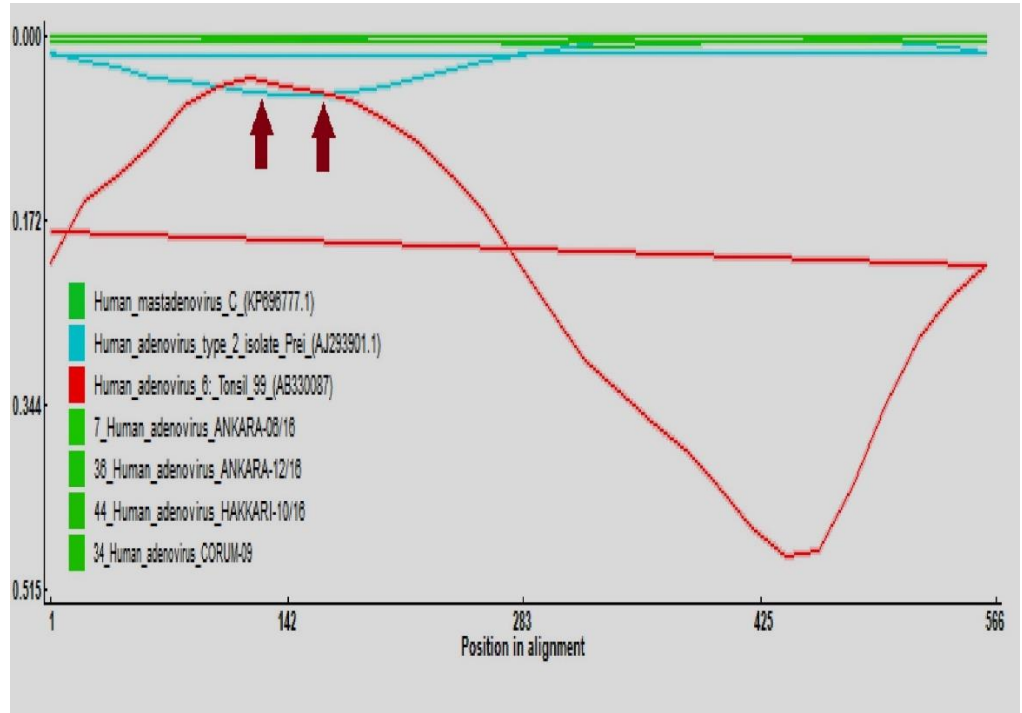


Şekil 3.3. AdV *hexon* gen bölgesi yönünden filogenetik ağaç. Filogenetik analiz yapılırken Maximum-Likelihood istatistik metodu, Kimura-2 modeli ve 1000 bootstrap tekrarı tercih edildi. Elde edilen sekanslar HAdV- B, C, D ve B grubunda yer almaktadır. “■ ve ▲” şekilleri ile gösterilen viruslar bu çalışmada kazanılan alttiplerdir.

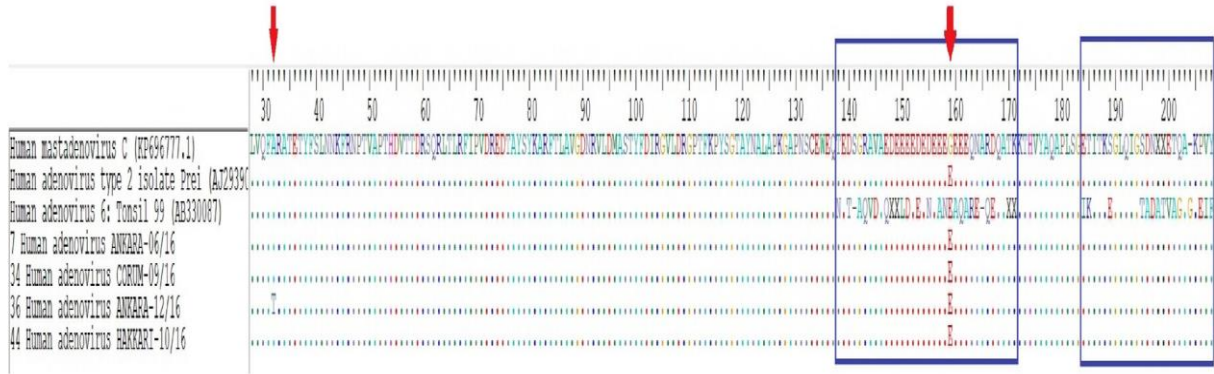
Hexon gen bölgesine göre yapılan moleküler değerlendirme sonucu sekanslarımızın; B, C, D ve F grubunda yer aldığı tespit edildi. HAdV B grubunda yer alanların, HAdV 3 ve 7 alt tipine parafiletik yakınlık gösterdiği ancak kendi aralarında ayrı bir küme oluşturdıkları saptandı. Ayrıca HAdV C grubunda yer alanların ise genotip 1, 2 ve 16 ile yakın benzerlik gösterdiği görülmektedir. Tez çalışmasındaki sığır ve koyun orijinli adenovirusların, BAdV genotip 1, 2, 3 ve OAdV 1, 2, 3 ve 5 genotiplerine ait olduğu saptandı (Şekil 3.3).

HAdV C grubunda yer alan 7, 34, 36 ve 44 numaralı 4 örneğin, GenBank accession numarası KP696777.1 olan ve literatürde HAdV 2/6 rekombinantı olarak bildirilen suş ile yakın parafiletik ilişki gösterdiği tespit edilmiştir (Li Y ve ark., 2015).

Çalışmamızda parsiyel analizde HAdV 2/6 rekombinantı ile yakın ilişkili olduğu tespit edilen bu dört örneğin RDP4 programı kullanılarak yapılan rekombinasyon analizinde; 7 farklı rekombinasyon sorgulama metodlarının uygulanması sonucunda, HAdV C genotipindeki suşlar ve sorgulama yapılan human adenoviruslar içinde 2. ve 6. serotiplerin 142. nükleotid bölgesinde rekombinasyon sinyali tespit edilmiş olup bu bölge kırmızı oklar ile gösterilmiştir (Şekil 3.4). Bu örneklerimize ait; parsiyel hexon geni aminoasit karşılaştırmasına ait veriler de Şekil 3.5'te görülmektedir.



Şekil 3.4. Parsiyel hexon gen bölgesi rekombinasyon sinyal analizi.



Şekil 3.5. Parsiyel hexon amino asit karşılaştırması.

36 numaralı örneğin parsiyel sekansında 32.aa'de (Ala → Thr) ve tüm sekanslarımızda (7, 34, 36 ve 44 numaralı) 159.aa'de (Gly → Glu) seviyesinde nonsense noktasal mutasyon vardır. Mavi çerçeve içerisinde olan bölgede HAV6 farklılık göstermektedir (Şekil 3.5).

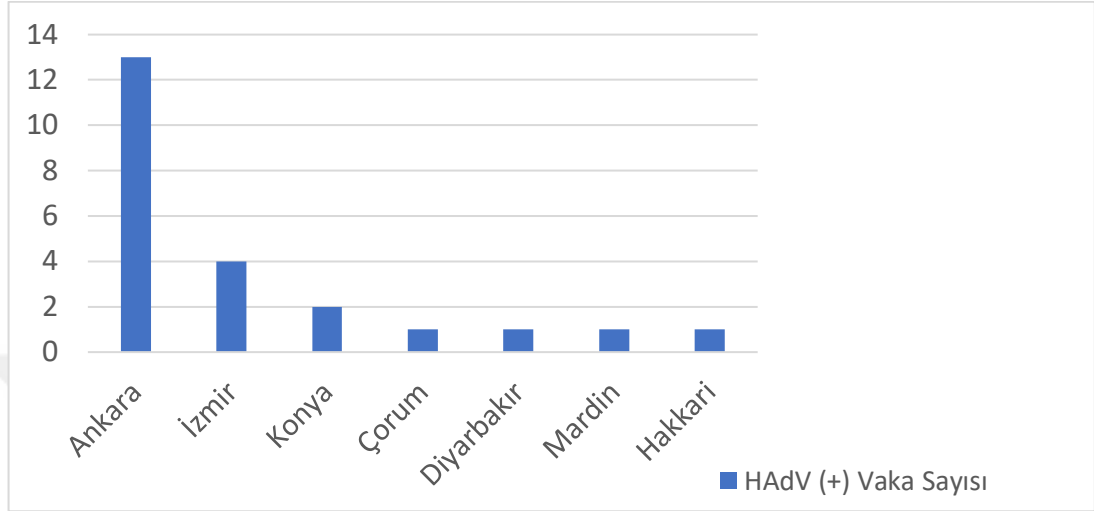
3.2. Elde Edilen Epidemiyolojik Veriler

Tez çalışmasında elde edilen veriler IBM SPSS Statistics Version 24 programına kaydedilerek analiz edilmiştir. Çalışmamızda HAdV (+) saptanan olguların % 69,6'sı erkek olup yaş ortalaması $9,74 \pm 17,2$ bulundu. Olguların % 69,6'sının örnekleri non-sentinel surveyans kapsamında elde edildi. HAdV (+) olgulara ait demografik veriler Çizelge 3.1'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Burun sürüntü örneklerinde AdV PCR pozitif saptanan hastaların demografik verileri

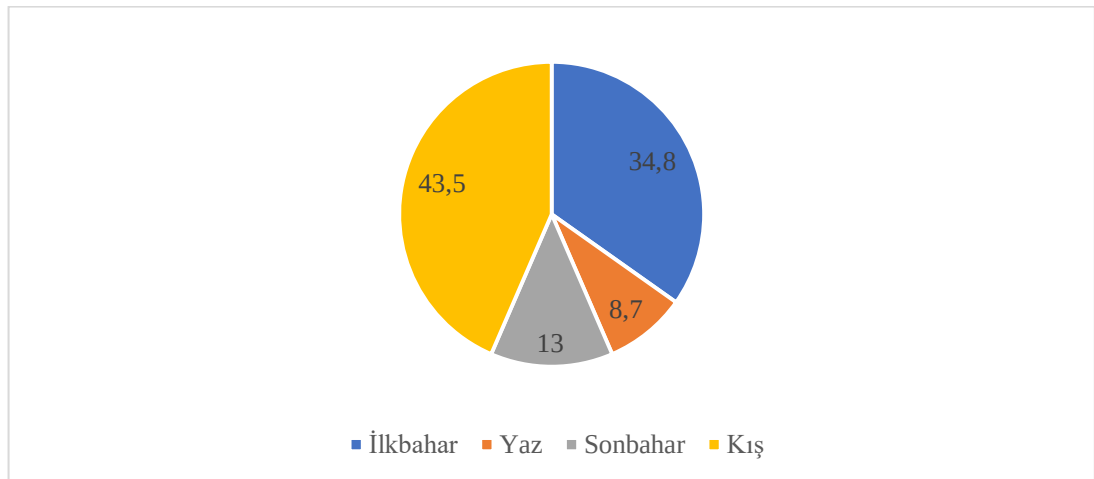
Yaş, Sayı (%)						Cinsiyet		Surveyans Şekli	
1-2 (0-24 ay)	3-5 (24,01- 60 ay)	6-10 (60,01- 120 ay)	11-17 (120,01- 208 ay)	18 yaş ve üzeri	Yaş ortalaması	Kadın	Erkek	Sentinel	Non- sentinel
7 (30,4)	9 (39,1)	4 (17,4)	0	3 (13,1)	$9,74 \pm 17,2$	7 (30,4)	16 (69,6)	7 (30,4)	16 (69,6)

THSK'dan alınan örneklerden (n=68) tez çalışmasında 23 adet pozitiflik belirlenmiş olup, HAdV pozitifliği saptanan örneklerin gönderildiği iller değerlendirildiğinde en sık Ankara (% 56,5), ikinci sırada İzmir'in (17,4) yer aldığı görülmektedir (Şekil 3.6).

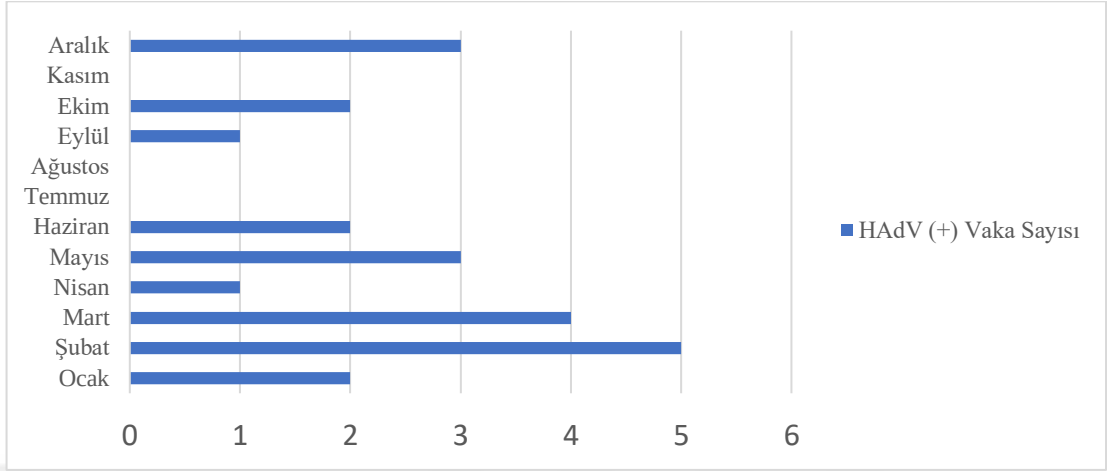


Şekil 3.6. HAdV (+) Olguların İllere göre Dağılımı

HAdV pozitif saptanan vaka örneklerin en sık kış (%43,5), ikinci sıklıkta ilkbahar (%34,8) mevsiminde THSK'ya gönderildiği tespit edilmiştir (Şekil 3.7). Aylara göre dağılıma bakıldığında enfeksiyonun en sık Şubat ayında saptandığı görülmektedir (Şekil 3.8).

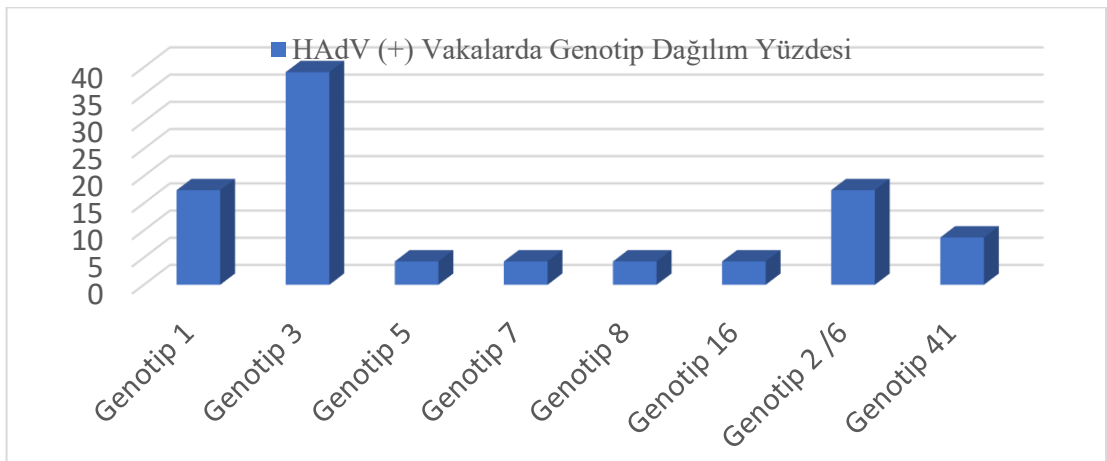


Şekil 3.7. HAdV (+) Vakaların Mevsimsel Dağılım Yüzdesi

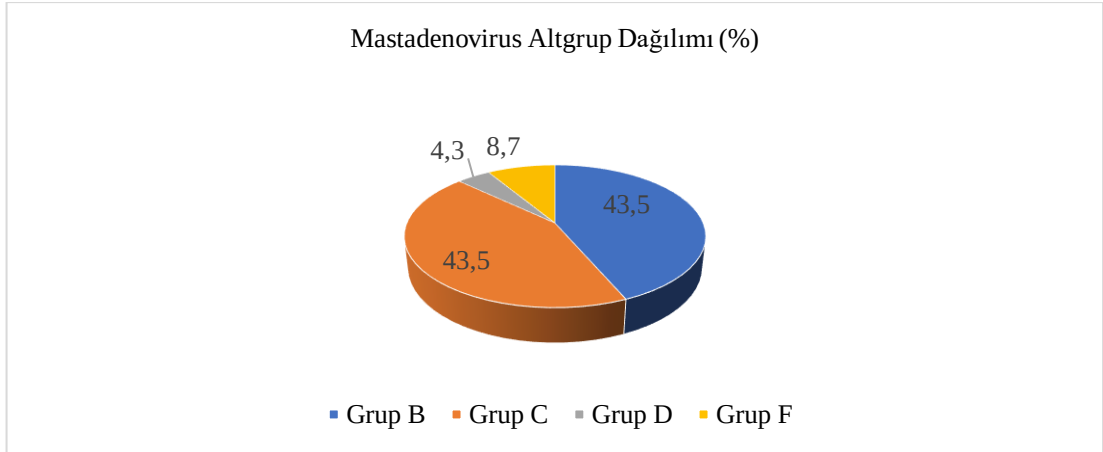


Şekil 3.8. HAdV (+) Vakaların Aylara göre Dağılımı

HAdV pozitif örneklerin moleküler analizi sonucunda en sık genotiplerin 3, 1 ve 2/6 olduğu Şekil 3.9’de görülmektedir. Mastadenovirus alt grupları mevsimsellik açısından değerlendirildiğinde; en sık grup olarak B ve C’de yer aldıkları ve dağılımlarının eşit olduğu (%43,5’i grup B’de, %43,5’i grup C’de) tespit edilmiştir. HAdV pozitif örneklerin moleküler analizi sonucunda saptanan alt grup dağılımı Şekil 3.10’de gösterilmiştir.



Şekil 3.9. HAdV (+) Vakaların Genotip Dağılım Yüzdesi



Şekil 3.10. HAdV (+) Olgularda Saptanan Mastadenovirus Gruplarının Dağılım Yüzdesi

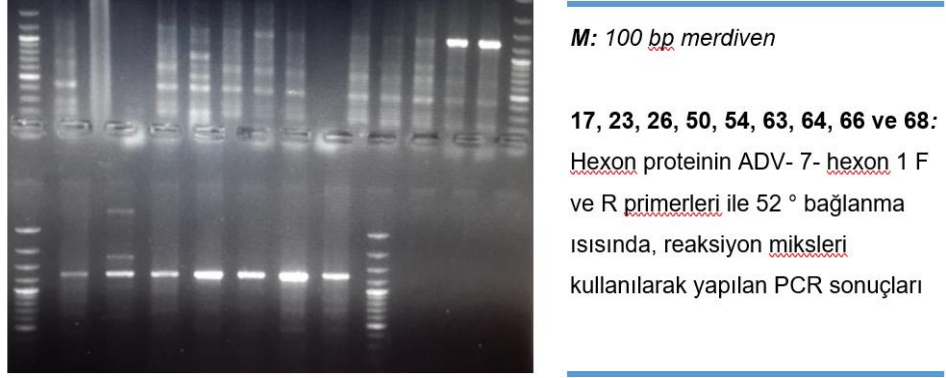
HAdV pozitifliği saptanan örneklerin alındığı hastalara ait demografik veriler ve moleküler analiz sonuçları Çizelge 3.2’de görülmektedir.

Çizelge 3.2. HAdV pozitifliği saptanan 23 örneğe ait demografik ve moleküler analiz verileri

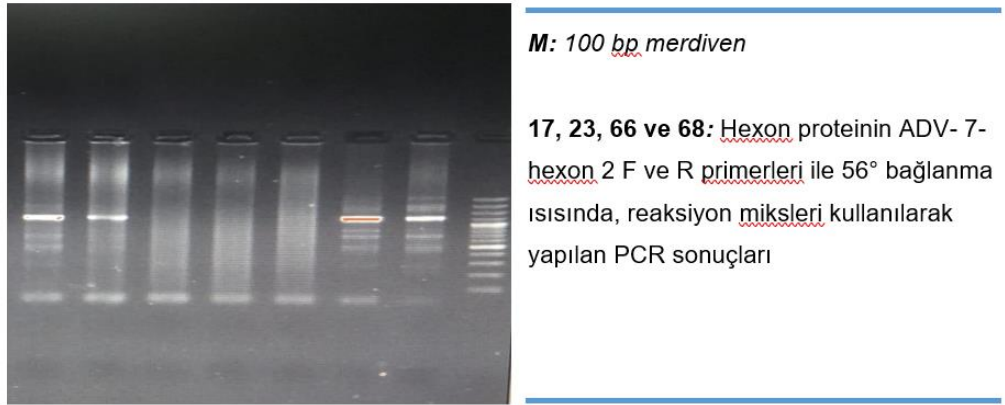
Protokol	Yaş	Cinsiyet	Sentinel / Nonsentinel	Gönderen il	Tarih	Grup	Genotip
4	1	E	Non-sentinel	Ankara	25.1.2016	C	HAdV1
7	2	E	Non-sentinel	Ankara	01.6.2016	C	HAdV2/6 rekombinant
9	3	E	Non-sentinel	Ankara	04.3.2016	C	HAdV1
5	1	K	Non-sentinel	Ankara	12.1.2016	D	HAdV8
15	1	E	Non-sentinel	Ankara	31.3.2016	C	HAdV1
17	5	K	Non-sentinel	Ankara	05.5.2016	B	HAdV3
19	1	E	Non-sentinel	Ankara	11.5.2016	C	HAdV16
22	1	E	Non-sentinel	Mardin	01.2.2016	C	HAdV5
23	3	K	Non-sentinel	Ankara	04.2.2016	B	HAdV3
25	3	E	Non-sentinel	Diyarbakır	09.2.2016	C	HAdV1
26	6	K	Non-sentinel	Ankara	10.2.2016	B	HAdV3
34	61	E	Non-sentinel	Çorum	27.9.2016	C	HAdV2/6 rekombinant
36	6	E	Nonsentinel	Ankara	9.12.2016	C	HAdV2/6 rekombinant
39	3	E	Sentinel	Ankara	8.12.2016	F	HAdV41
41	4	E	Nonsentinel	Ankara	24.10.2016	F	HAdV41
44	54	K	Nonsentinel	Hakkari	10.10.2016	C	HAdV2/6 rekombinant
50	4	E	Sentinel	Konya	19.2.2016	B	HAdV3
52	1	K	Nonsentinel	Ankara	26.12.2016	B	HAdV7
54	6	E	Sentinel	İzmir	18.3.2016	B	HAdV3
63	4	K	Sentinel	İzmir	03.6.2016	B	HAdV3
64	7	E	Sentinel	Konya	06.5.2016	B	HAdV3
66	5	E	Sentinel	İzmir	08.4.2016	B	HAdV3
68	42	E	Sentinel	İzmir	18.03.2016	B	HAdV3

Tez çalışmamızda parsiyel sekans analizi sonucu filogenetik ağaçta kısmi yakınlığı gösterilen, B grubunda yer alan HAdV genotip 3 ve 7 ile yakın ilişkili olup bu gruptan seçilen 4 örneğin, yaklaşık 2841 baz olan *hexon* geni tam genom analizi;

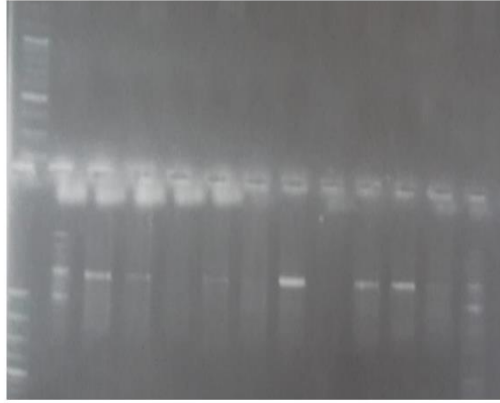
Yu ve ark.'ın bildirdiği primer çiftleri kullanılarak yapıldı (Çizelge 2.5). ADV-7 hexon 1, 2 ve 3 primer çiftlerinin kullanıldığı PCR çalışmasına ait jel görüntüleri Şekil 3.11, Şekil 3.12 ve Şekil 3.13'de gösterilmiştir.



Şekil 3.11. HAdV Hexon 1F ve 1R primerleri ile elde edilen ürünlere ait PCR görüntüsü



Şekil 3.12. HAdV Hexon 2F ve 2R primerleri ile elde edilen ürünlere ait PCR görüntüsü



M: 100 bp merdiven

17, 23, 50, 63, 64, 66 ve 68: Hexon proteinin ADV- 7- hexon 3 F ve R primerleri ile 58 ° bağlanma ısısında, reaksiyon miksləri kullanılarak yapılan PCR sonuçları

Şekil 3.13. HAdV Hexon 3F ve 3R primerleri ile elde edilen ürünlere ait PCR görüntüsü

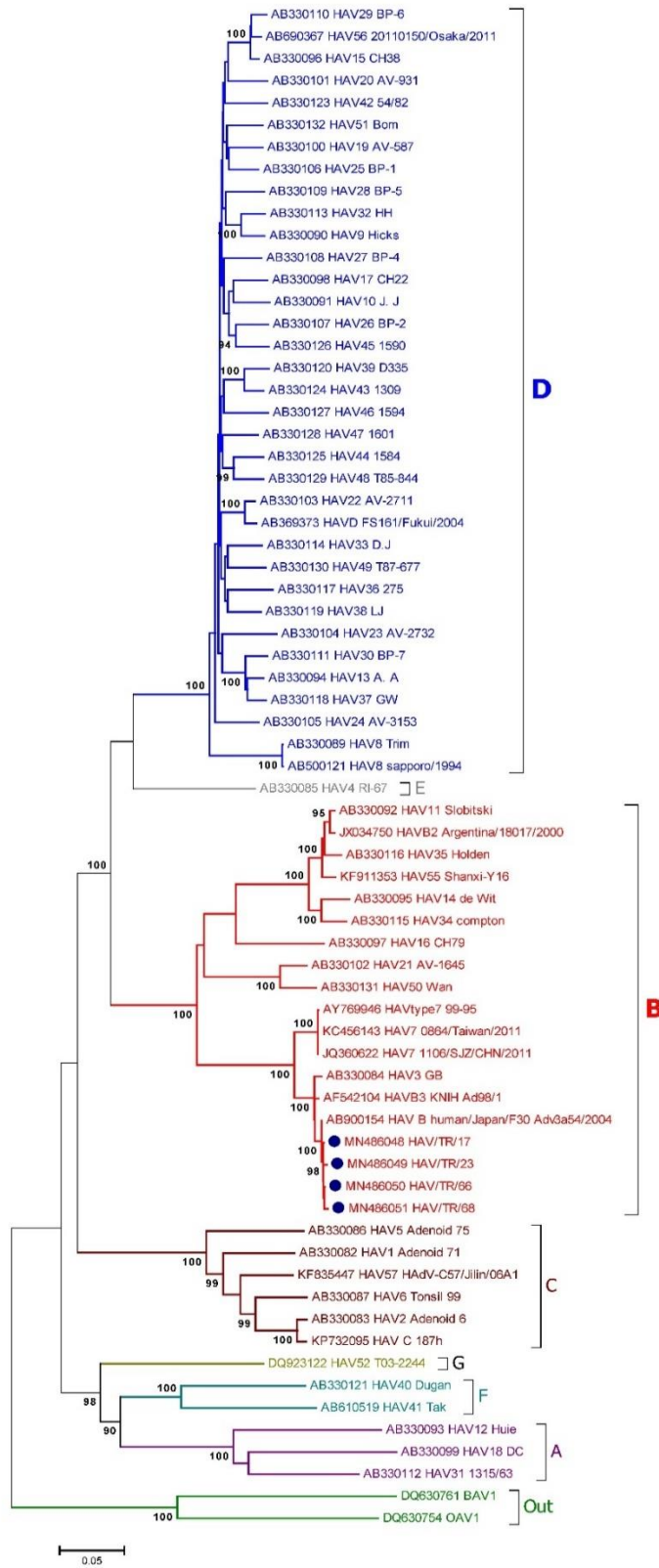
Tam hexon geni dizini elde edilen dört örneğe ait accession numaraları filogenetik ağaçta (Şekil 3.14) görülmekte olup şöyledir:

MN486048_HAV/TR/17,

MN486049_HAV/TR/23,

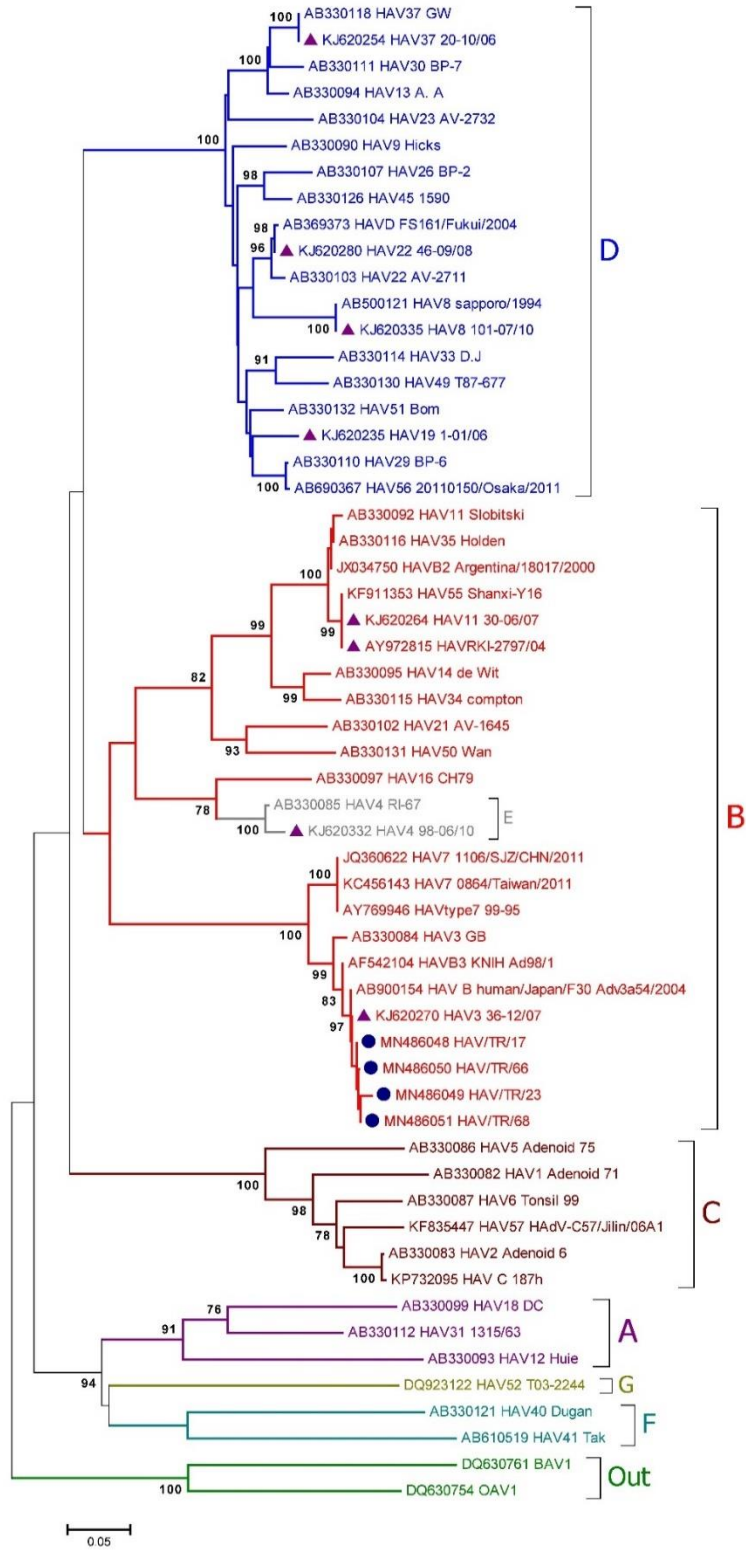
MN486050_HAV/TR/66,

MN486051_HAV/TR/68



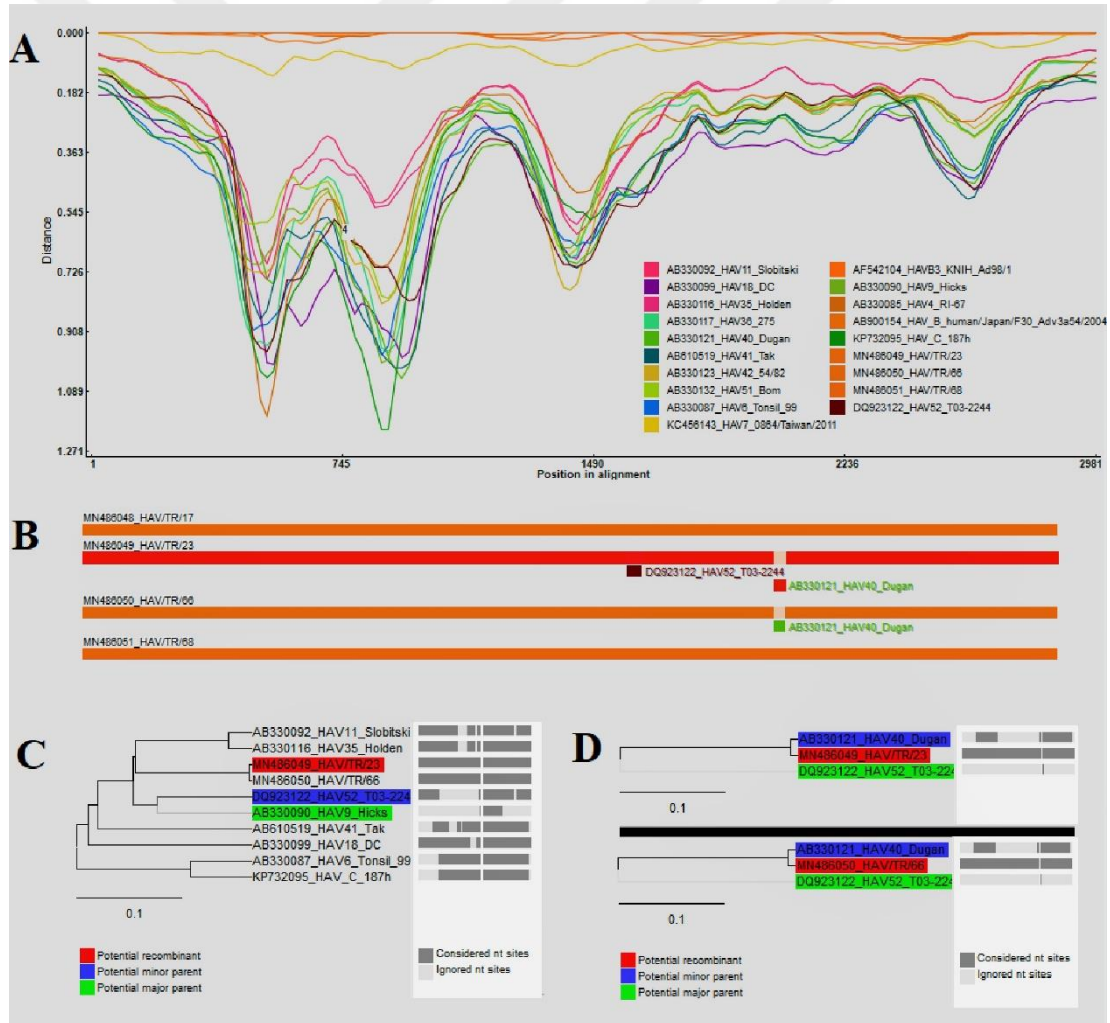
Şekil 3.14. Human Adenovirus Komple Hexon geni orijinli Maximum-Likelihood (ML) filogenetik ağacı.

Çalışmada elde edilen sekanslar GenBank veritabanındaki referans adenovirus sekansları ile karşılaştırılarak filogenetik analiz yapılmıştır (Şekil 3.14). Her sekans için 2855 baz uzunluğunda eşitleme (alignment) yapılmıştır. Analiz yapılırken Tajima-Nei evrimsel metodu ve 1000 tekrar seçenekleri kullanılmıştır. Bölgeler arasındaki oran varyasyonu GTR+G+I dağılım modellemesi ile yapılmıştır. Tüm sekanslara ait "GenBank accession" numaraları taksonlarda sunulmuştur. Filogenetik ağaçta bu çalışmaya ait sekanslar “●” simgesi ile gösterilmiştir. Filogenetik analize göre çalışmamıza ait 4 komple hexon sekansı küçük bir küme oluşturarak “Human Adenovirus-B” tipinde yer almıştır. Ayrıca, Human Adenovirus -3 ve -7 sekanslarımıza en yakın olan alt tiplerdir.



Şekil 3.15. Human Adenovirus Parsiyel Hexon geni (550 baz uzunluğu) orijinli Maximum-Likelihood (ML) filogenetik ağacı.

Çalışmamızda elde edilen sekanslar GenBank veritabanındaki referans adenovirus sekansları ile karşılaştırılarak filogenetik analiz yapılmıştır. Her sekans 550 baz uzunluğunda eşitleme (alignment) yapılmıştır. Analiz yapılırken Tajima-Nei evrimsel metodu ve 1000 tekrar seçenekleri kullanılmıştır. Bölgeler arasındaki oran varyasyonu GTR+G+I dağılım modellemesi ile yapılmıştır. Tüm sekanslara ait "GenBank accession" numaraları taksonlarda sunulmuştur. Filogenetik ağaçta bu çalışmaya ait sekanslar “●” simgesi ile gösterilmiştir. Türkiye’de daha önce elde edilen sekanslar ise “▲” simgesi ile gösterilmiştir. Filogenetik analize göre çalışmamıza ait 4 komple hexon sekansı küçük bir küme oluşturarak “Human Adenovirus-B” tipinde yer almıştır (Şekil 3.15). Ayrıca, Human Adenovirus -3 ve -7 sekanslarımıza en yakın olan alt tiplerdir.



Şekil 3.16. RDP4 programı ile yapılan rekombinasyon analizi.

Potansiyel rekombinasyon ihtimallerinin sorgulamak için RDP4 programında farklı 7 algoritma ile analiz yapılmıştır (RDP, GENECOV, Chimera, MaxChi, BootScan, SiScan, 3Seq) (Martin ve ark., 2015). Bu analizde; GenBank'tan sağlanan her tipe ait referans HAdV tam Hexon sekansları ile bu tez çalışmasında elde edilen ülkemiz orijinli 4 tam hexon geni sekansları kullanılmıştır (Şekil 3.16).

A. Distance plot analizi. Bu çalışmaya ait sekanslar turuncu çizgi ile gösterilmiş olup, rekombinasyonel açıdan en stabil sekanslardır.

B. HAV/TR/17 ve 68'de herhangi potansiyel rekombinasyon mevcut değilken, HAV/TR/23 ve 66'da RDP algoritması ile rekombinasyon bölgeleri mevcuttur.

C. HAV-D (9) ve -G (52) parent olduğu HAV/TR/23 üzerinde potansiyel rekombinasyon (1420-1700 nt. Aralığı)

D. HAV-E (40) ve -G (52) parent olduğu HAV/TR/23 ve HAV/TR/66 üzerinde potansiyel rekombinasyon (2012-2340 nt. Aralığı).

Tam hexon geni analizi yapılan 4 suşa ait nükleotid benzerlik tablosu Şekil 3.17'de görülmekte olup, birbirleri arasındaki nükleotid benzerliklerinin %94,4 ila %94,8 arasında olduğu tespit edilmiştir.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1.AB330092_HAV11_Slobitski		69.9	95.9	75.1	70.8	71.3	74.5	74.8	70.0	80.2	79.7	75.7	75.3	80.0	70.3	79.9	79.7	79.8	79.6	71.7
2.AB330099_HAV18_DC	66.9		69.8	69.9	74.9	74.6	69.8	70.1	69.6	70.3	69.7	70.4	70.0	69.7	68.5	69.5	69.4	69.6	69.5	76.0
3.AB330116_HAV35_Holden	92.0	67.2		74.6	70.4	70.6	74.3	74.4	70.2	79.3	78.7	75.6	75.3	79.0	71.3	78.8	78.7	78.8	78.6	71.1
4.AB330117_HAV36_275	72.4	66.6	72.4		73.0	73.0	89.4	88.9	73.6	75.4	75.7	89.3	80.6	75.5	72.7	75.3	75.2	75.3	75.1	73.8
5.AB330121_HAV40_Dugan	67.8	69.1	67.6	69.2		83.1	72.9	73.4	70.2	72.8	71.6	73.4	72.8	71.5	69.8	71.4	71.3	71.4	71.2	76.9
6.AB610519_HAV41_Tak	68.2	68.8	67.7	69.3	76.8		72.3	72.0	69.4	71.8	70.9	72.8	73.4	71.0	69.5	70.9	70.7	70.8	70.6	77.7
7.AB330123_HAV42_54/82	72.2	66.6	72.3	85.6	69.5	69.1		90.4	73.0	75.5	75.9	90.1	80.5	75.9	72.7	75.6	75.5	75.6	75.5	73.6
8.AB330132_HAV51_Born	72.4	66.5	72.2	85.2	69.7	68.9	86.5		73.6	75.8	76.2	90.7	81.0	76.2	72.7	76.0	75.9	75.9	75.8	73.3
9.AB330087_HAV6_Tonsil_99	68.6	67.3	69.1	71.8	68.4	67.5	71.5	71.9		70.0	70.3	73.3	72.8	70.6	89.0	70.4	70.2	70.4	70.1	71.0
10.KC456143_HAV7_0864/Taiwan/2011	76.7	66.0	76.1	72.1	68.2	67.5	72.8	72.6	68.3		94.4	76.5	76.9	94.6	70.3	94.3	94.2	94.3	94.1	72.4
11.AF542104_HAVB3_KNIH_Ad98/1	76.5	66.2	75.9	72.9	68.3	67.2	73.6	73.3	68.7	89.6		76.7	76.8	99.2	70.5	98.9	98.8	98.9	98.6	71.7
12.AB330090_HAV9_Hicks	72.9	66.4	73.1	85.3	69.5	68.9	86.1	86.3	71.2	73.1	73.7		80.8	76.8	73.4	76.6	76.5	76.5	76.3	74.3
13.AB330085_HAV4_RI-67	72.2	65.5	72.3	77.0	68.5	68.9	77.1	77.3	71.3	72.8	73.1	76.8		76.8	72.1	76.5	76.4	76.5	76.4	75.0
14.AB900154_HAV_B_human/Japan/F30_Adv3a54/2004	76.8	66.2	76.2	72.7	68.2	67.3	73.6	73.3	68.9	89.8	94.3	73.9	73.0		70.6	99.7	99.6	99.7	99.4	71.6
15.KP732095_HAV_C_187h	69.4	66.7	70.0	71.0	68.3	68.3	71.4	71.4	86.7	69.0	69.3	71.6	71.0	69.5		70.5	70.4	70.5	70.3	70.2
16.MN486048_HAV/TR/17	76.7	66.1	76.0	72.5	68.1	67.2	73.4	73.1	68.8	89.6	94.0	73.7	72.8	94.9	69.4		99.7	99.8	99.5	71.4
17.MN486049_HAV/TR/23	76.5	66.0	75.9	72.3	68.0	67.0	73.3	73.0	68.6	89.4	93.9	73.6	72.7	94.7	69.2	94.7		99.6	99.4	71.3
18.MN486050_HAV/TR/66	76.6	66.1	76.0	72.4	68.1	67.1	73.4	73.1	68.8	89.5	94.0	73.7	72.8	94.8	69.4	94.8	94.7		99.6	71.4
19.MN486051_HAV/TR/68	76.4	66.0	75.8	72.3	67.9	66.9	73.3	72.9	68.5	89.3	93.7	73.5	72.6	94.6	69.2	94.5	94.4	94.6		71.2
20.DQ923122_HAV52_T03-2244	68.8	69.3	68.3	70.6	71.3	71.7	70.7	70.5	69.0	68.0	68.4	70.4	70.9	68.2	69.0	68.1	67.9	68.0	67.8	
	Similarity																			
	Identity																			

Şekil 3.17. Tam hexon geni nükleotid benzerlik ve farklılık tablosu.

4. TARTIŞMA

Adenoviridae ailesine ait viruslar; benzer yapısal, serolojik ve biyolojik özelliklere sahip 80'in üzerinde üyeyi bünyesinde barındıran kalabalık bir virus ailesidir. *Mastadenovirus* genusu üyesi olan AdV'lar; insan ve hayvan türlerini enfekte edebilen ve hafiften ağıra doğru değişebilen çeşitli klinik bulgulara yol açabilen önemli patojenler olarak tanımlanırlar ki, bu yapıları nedeniyle konakçı-virus etkileşimlerini ve viral evrimi çalışmak için ideal bir sistem sunarlar. Bununla birlikte, karşılaştırmalı viral genom çalışmaları insan AdV'larında büyük ölçüde sınırlıdır (Hu ve ark., 1984). Bu tez çalışmasında farklı türlere (sığır, koyun, insan) ait AdV'ların hexon gen bölgelerinin karşılaştırmalı analizi hedeflenmiş olup, 23 adet insan, 4 adet ovine, 3 adet bovine orijinli AdV moleküler teknikler kullanılarak karakterize edilmiştir.

Bu tez çalışmasında kullanılan farklı türlere ait AdV suşlarının bovine ve ovine orijinli olanları, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı virus koleksiyonunda bulunan referenz viruslardır. Hayvansal orijinli viruslar, örnekleme sonucunda kazanılmamış olduklarından ve söz konusu suşların yaş, cinsiyet, hayvan ırkı gibi verileri bulunmadığı için istatistiksel bir değerlendirme yapılması mümkün olamamıştır. Bu bakımdan sadece insan örneklerinin istatistiksel açıdan sonuçlarının değerlendirilmesi yapılabilmektedir.

İnsan örneklerine ait pozitiflikler sıralanacak olursa; en sık 3 nolu genotip (%39,1; 9/23) identifiye edilmiştir. Takip eden genotipler olarak 1 (4/23) ve 26 (4/23) nolu olanlar %17,4 olarak eşit düzeyde identifiye edilmiştir. Sıralamada üçüncü sıklıkla (%8,7) identifikasyon yapılan genotip 41 (2/23) olup, diğer genotipler; 5 (1/23), 7 (1/23), 8 (1/23) ve 16 (1/23) yine eşit düzeyde (%4,3) tespiti yapılanlardır. HAdV pozitifliği saptanan hastaların yaş gruplarına bakıldığında literatürle benzer şekilde en sık (%39,1) 3-5 yaş grubunda görüldüğü saptanmıştır (Cooper ve ark., 2000). Bir örnekte HAdV- B7 genotipi saptanmış olup ciddi klinik seyir ile ilişkili olması, son yıllarda Asya'da re-emerging etkenler arasında bildirilmeye başlanması ve

Ülkemizde daha önce sirküle olan suşlar arasında bildirilmemiş olması bakımından önem arz etmektedir.

İnsan örneklerine ait yaş grupları ile sekans analizi ile elde edilen hexon genine ait genotip ilişkisi sonuçları değerlendirildiğinde; en çok gözlenen 3 nolu genotipteki bireylerin 3-5 yaş arası grupta yer aldığı görülmüştür. Bu enfeksiyonun bulaş yolu düşünüldüğünde, özellikle solunum yolu sekret ve ekskretleri ile yayılım söz konusu olduğundan; daha çok kreş yaşı olan 3-5 yaş grubundaki bireylerin birlikte bulunmalarının virus naklinde önemli olduğu düşünülmektedir. Bu yaş grubundaki enfekte bireylerin sağlıklı bireylere virüsü nakletmesi için literatür bilgilerinde de belirtildiği gibi okul, kreş gibi yerlerin uygun ortamlar olduğu kanaatine varılmıştır. Literatürde AdV genotiplerinin yaş gruplarına göre dağılımına bakıldığında benzer şekilde genotip 3'ün 1-4 yaş grubunda sık görüldüğü (%27,3) bildirilmiştir (Cooper ve ark., 2000). Çalışmamızda, örneklerin alındığı hastaların yaş dağılımı dikkate alındığında; 3-5 yaş arası olan grupta sayısal bir yoğunluk bulunması nedeniyle, bu yaş grubuna denk gelen pozitifliklerin çalışmadaki AdV gruplarının dağılımına etkisi de göz ardı edilemeyecek durumdadır. Bu durumun doğal bir sonucu olarak; her biri %43,5 oranında (10/23) olmak üzere, B ve C grubunun bu tez çalışmasında en çok tespit edilen gruplar olduğu görülmüştür. Bu tez çalışmasında araştırılan örnekler kapsamında; D ve F gruplarından Adenovirusların da tespiti yapılmış olup, 23 örnekten 1'inin (%4,3) D grubunda ve 2'sinin (%8,7) F grubunda yer aldığı görülmüştür. Çalışmamızda araştırılan solunum sistemi örneklerinde, HAdV solunum sistemi örneklerinin genotiplerine yönelik literatür bilgisi (Flomenberg ve ark., 2018) ile de uyumlu olarak; B ve C grubunun eşit sıklıkta yer aldığı tespit edilmiştir. Ayrıca D ve F grubundan genotiplerin de varlığı belirlenmiştir. Bu bağlamda ülkemizde 2015-2016 yıllarındaki insan AdV enfeksiyonlarından; B, C, D ve F gruplarının sorumlu olduğu görülmektedir.

Her ne kadar örnek sayısının dağılımında homojenite bulunmasa da cinsiyet açısından bakıldığında, erkek hastalarda kadınlara oranla 2 kattan fazla AdV pozitifliği dikkat çekici bir bulgu olarak değerlendirilmiştir. Literatürde de çalışmamızdaki bulgulara benzer şekilde erkek bireylerin, çoğu AdV serotipi ile enfeksiyona daha

duyarlı oldukları bildirilmiştir (Cooper RJ ve ark., 2000). Literatür bilgide sadece A grubunda yer alan serotiplere bağlı enfeksiyonların kadınlarda daha sık görülebildiği, HAdV serotip 4, 6 ve 7 ilişkili enfeksiyonların ise kadın ve erkeklerde benzer oranda enfeksiyona neden olduğu bildirilmiştir (Cooper RJ ve ark., 2000). Çalışmamızda cinsiyet ve genotip dağılımı arasındaki ilişki incelendiğinde; kadınların %71,4'ünde (5/7) HAdV-B grubunun, erkeklerin ise %56,3'ünde (9/16) HAdV- C grubunun en sık etken olduğu tespit edilmiştir. Genotip düzeyinde irdelendiğinde, her iki cinsde de baskın tipin B grubunda yer alan genotip 3 olduğu (kadınlarda %57,1 (4/7), erkeklerde ise %31,3 sıklıkla (5/16)) belirlenmiştir. Erkeklerde en sık tespit edilen diğer tipler sırasıyla %25 (4/16) genotip 1, %18,8 (3/16) genotip 26 olarak saptanmıştır. Kadınlarda 1, 5, 16 ve 41 nolu genotiple enfeksiyon tespit edilmezken, erkeklerde de 7 ve 8 nolu genotiplerin tespiti yapılmamıştır.

Örneklerin coğrafik dağılımı incelendiğinde; İç Anadolu'dan (Ankara, Çorum, Konya), Ege (İzmir) ve Doğu-Güneydoğu Anadolu'dan (Mardin, Diyarbakır, Hakkari) geldiği görülmektedir. Genotip dağılımı, İç Anadolu'da 1, 3, 7, 8, 16, 26, 41; Doğu-Güneydoğu Anadolu'da 1, 5, 26; Ege'de 3 şeklinde bulunmuştur. Ege bölgesinden gelen örnek sayısı 4 olmakla birlikte, tek bir genotipin hakim olduğu görülmektedir. Bölgelerdeki sonuçlar grup dağılımı yönünden incelenecek olursa; en sık B ve C grubu (her biri %43,5) olmak üzere, sırasıyla F ve D grupları takip etmektedir. İllere göre de en sık görülen genotip 3'tür (%39,1).

Yapılan analizlerde mevsim ile AdV pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki olduğu görülmektedir. AdV enfeksiyonlarının, özellikle solunum yolu enfeksiyonlarının artış gösterdiği kış (% 43,5) ve ilkbaharda (% 34,8) daha sıklıkla görülebildiği, yaz (% 8,7) ve sonbahar (% 13) aylarında vaka sayısının nispeten azaldığı tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında yaş, cinsiyet, vb. tüm değişkenlerde olduğu gibi gelen vaka sayısına bağlı olarak genotip ve grup dağılımının şekillendiği; 3 nolu genotip ile B ve C grubunun öne çıkan baskın tipler olduğu tespit edilmiştir.

Bu tez kapsamında farklı türlere ait AdV'ların hexon gen bölgelerinin karşılaştırmalı analizi hedeflenmiş olup, elde edilen toplamda 30 adet (n=23 insan, n=4

koyun, n=3 sığır) örneğin filogenetik analiz sonuçları, hem insan hem de hayvansal orijinli AdV'lar bakımından ayrı ayrı ve birlikte olarak değerlendirilmiştir:

İnsan AdV'ları; nötralizasyon ve hemaglutinasyon deneyleri yanı sıra, genom dizilimi, fonksiyonel karakterizasyon gibi filogenetik ve biyolojik özelliklerinin analizi sonuçlarına dayanılarak, 100'den fazla türü içeren yedi genogrupta (A-G) klasifiye edilmektedir (The HAdV Working Group (2019). Ayrıca AdV'ların gösterdikleri doku tropizmine göre yapılan sınıflandırmada gastroenterite neden olanlar (HAdV-A, -F ve -G), respiratorik hastalık yapanlar (HAdV-B, -C ve -E), keratokonjunktivit etkenleri (HAdV-D) olarak da gruplandırılmaları mümkündür. Bu klasifikasyonlarda AdV'ların üç viral kapsit proteininden biri olan hexon geninin de bulunduğu filogenetik analiz sonuçları tüm dünyadaki alt tiplerin genotiplendirilmesinde önem arz etmektedir. Bu bağlamda tez kapsamında parsiyel hexon gen sekansları kullanılarak yapılan filogenetik analizlerde; 23 adet insan örneğinin B, C, D ve F sub genotiplerinde (B =C>F>D) yer aldığı belirlenmiştir.

Bu tez çalışmasında 4 adet HAdV-B genotip 3'de yer alan örneğin tam hexon geni analizi sonuçları değerlendirildiğinde; birbirleri arasındaki nükleotid identikliklerinin %94,4 ile %94,8 arasında değiştiği belirlenmiştir. Söz konusu 4 sekans, GenBank'tan sağlanan her tipe ait referans HAdV'ler ile karşılaştırıldığında nükleotid değişiminin %69,4 ile %99,8 arasında olduğu görülmüştür (Şekil 3.17). Bu sonuçlar arasındaki yüksek değişkenlik, Ülkemiz orijinli HAdV'ların farklılıklarının tam anlamıyla ortaya konulabilmesi için tam genom analizi yapılması gerekliliğini göstermektedir.

Bugüne dek literatürde tespiti yapılan HAdV-F sub genusunda bulunan tipler; 40 ve 41 olarak tanımlanmış ve genellikle akut gastroenterit klinik bulgusu gösteren bireylerden elde edilmiştir (Flomenberg ve ark., 2018). Bu tez çalışmasında kullanılan örnekler THSK'dan elde edilmiş olup, klinik olarak respiratorik bulgu gösteren bireylerden alınmıştır. Burada dikkat çekici bir durum olarak; 2 adet respiratorik bulgulu örneğin, filogenetik analizde enterik enfeksiyonlardan sorumlu AdV'ların bulunduğu F grubunda yer aldığı belirlenmiştir.

Garnett ve ark. (2009); HAdV-C viruslarının birincil enfeksiyonu solunum sisteminde yapmalarına rağmen, virusun sindirim sistemi intestinal T lenfositlerinde persiste enfeksiyonlara neden olabileceğini, aralıklı saçılım nedeniyle de aylarca ve hatta yıllarca dışkıda kalabileceğini bildirmiştir. Benzer durumun, bu tez çalışmasında F grubunda olduğu tespit edilen respiratorik sistem bulgulu hastalara (3 yaş çocuğa ait 39 nolu sentinel örnek ve 4 yaş çocuğa ait 41 nolu nonsentinel örnek) ait numuneler için de geçerli olabileceği ve HAdV-F viruslarının solunum sistemine de tropizm göstermesine ve/veya adenoidlerde persistansına bağlı olabileceği kanaatine varılmıştır.

Cooper ve ark. (2000); İngiltere’de 4 yaş altı çocuklarda görülen adenovirus enfeksiyonlarının epidemiyolojisini değerlendirdikleri çalışmada; 1928 adenovirus örneğinden 555’inin (%28,8) F grubunda (HAdV 40 ve HAdV41) yer aldığını bildirmişlerdir. Hastaların semptomları ile genotip ilişkisinin irdelenmesi sonucunda; respiratorik semptomu olan 530 hastanın ağırlıklı olarak B ve C grubunda yer aldığı, sadece birinin F grubunda olduğu (%0,2) bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada; eş zamanlı respiratorik ve gastrik bulguları olan 131 hastanın %19,1’inde F grubu ADV’lerin etken olarak saptandığı bildirilmiştir. Kenmoe ve ark. 2018; akut solunum yolu enfeksiyonu bulgusu olan hastalardan alınan ve HAdV pozitif bulunan 137 solunum sistemi örneğinde en sık; %78,5 HAdV-B, %34,8 HAdV-C saptandığını bildirmiştir. Aynı çalışmada; 6/137 solunum sistemi örneğinde (%4,4), HAdV-F genotipinin tespit edildiği ve bu durumun HAdV-F genotipinin solunum sistemine de tropizmi olduğunun göstergesi olduğu bildirilmektedir. Literatür bilgisi ile uyumlu olarak bizim çalışmamızda bulunan en sık HAdV genotipleri HAdV-B ve HAdV-C’dir. Ayrıca bu tez çalışmasında, solunum sistemine ait 23 pozitif HAdV örneğinin 2’sinde (% 8,7) HAdV-F 41 tipi saptanmış olup literatürdeki bu bulguyu destekler niteliktedir. Çalışmamızda, respiratorik bulgusu olan 1 sentinel ve 1 nonsentinel solunum sistemi örneğinde (nazal /nazofarenks sürüntü) HAdV- F 41 tespit edilen hastalarda, solunum sistemi bulgularına ek olarak gastrointestinal sisteme ait semptom olup olmadığı bilgisine ulaşılamamıştır. Çalışmamızda solunum sistemi bulgusu olan hastalardan alınan nazal sürüntü ve nazofarenks sürüntü örneklerinde HAdV-F 41 pozitifliği

saptanması, bu durumun HADV-F 41 genotipinin gastrointestinal sistem dışında solunum sistemine de tropizm gösterdiğini düşündürmektedir.

Ülkemizde HAdV tiplerinin araştırıldığı çalışmalar içerisinde bu veri ilk olma niteliği taşımaktadır. Elde edilen bu virusların tam genom analizlerinin yapılarak hem cinsleri ile karşılaştırılması ile bu sorulara ileriki çalışmalarda cevap aranması gerektiği kanaatine varılmıştır.

Adenovirus enfeksiyonlarının ciddi klinik seyri genotip ile ilişkilidir (Tabain ve ark., 2012). Akut solunum yolu enfeksiyonu nedeniyle hastanede yatan hastaların sürveyansının yapıldığı bir çalışmada; HAdV- B tiplerinin HAdV- C 'ye göre daha ciddi enfeksiyona yol açtığı bildirilmektedir (Larrañaga ve ark., 2000). HAdV B tipi, özellikle infant ve çocuklarda akut solunum sistemi enfeksiyonu ile ilişkili en sık patojenler arasındadır. Klinik semptomların diğer solunum sistemi patojenlerine bağlı enfeksiyonlar ile benzer olması nedeniyle, klinisyenlerin HAdV enfeksiyonlarını, diğer patojenlerden sadece klinik bulgular ile ayırmaları zordur. Bu nedenle, özellikle HAdV B tipini saptayabilen hızlı, sensitivite ve spesifitesi yüksek testlere ihtiyaç bulunmaktadır. Hızlı tanı testleri ile erken tanı konulması, başlangıç tedavisinin düzenlenmesinde, gereksiz antibiyotik kullanımının önlenmesinde, virus bulaşının engellenmesinde yararlı olacaktır (Wu ve ark., 2019).

AdV'larda bulunan genomik varyant çeşitliliği nedeniyle tanısal amaçla kullanılan spesifik monoklonal antikorların tanı kapasitelerinin kısıtlandığı bildirilmektedir (Wadel G ve ark., 1980). Korunaklı bir bölge olan AdV hexon proteinine yönelik nükleik asit tespitine dayalı tanısal metodların da restriksiyon endonükleaz aktivitesi veya radioisotop kullanımlı testler ile destekli çalışılması sayesinde, tip tayini yapılabilmekteydi (Wadel ve ark., 1980). Ancak geçmişte kullanılan bu yöntemlerle tip tayininde zorluklar yaşandığından, günümüzde realtime-PCR veya sekans analizi ile doğru tiplendirme yapılabilmesi tercih edilir olmuştur. Bununla birlikte, nükleik asit tespitine dayalı hızlı tanı kitlerinin geliştirilmesi ile sirküle olan virus tiplerinin tespiti mümkün olabilmekteyken, tip spesifik primer kullanımı ile gerçekleştirilen bu çalışmaların farklı tiplerle enfeksiyonlar söz konusu

olduğunda spesifite ve sensitiviteilerinin değışebileceğı konusu da unutulmamalıdır. Bu bağlamda; bu tez çalışmasında, aslında respiratorik enfeksiyon bulgulu hasta örneklerinde enterik patojen tiplerin tespit edilmesi, tanısal metot tercihlerinin sorgulanması gerekliliğini bir kez daha göstermektedir.

Adenovirusların genetik hastalıklar ve kanser tedavisinde vektör olarak kullanılmaları için genom stabilitesi oldukça önemlidir. İn vitro olarak belirgin seleksiyon olduğu durumlar dışında AdV’larda rekombinasyon genellikle aynı tür içindeki suşlar arasında olmaktadır (Lukashev ve ark., 2008). Türler arası rekombinasyon oldukça nadir olmakla birlikte, literatürde türler arası rekombinantlar olduğu tespit edilen AdV prototipleri de bildirilmiştir (Ebner ve ark., 2005). Rekombinasyonlar, sıklıkla AdV’ların yapısal olmayan bölgelerinde görülebilmektedir. Lukashev ve ark., 2008; dolaşımdaki AdV’lar arasında rekombinasyonun sık görüldüğünü ve bu durumun AdV genomlarının filogenetik ilişkilerinin şekillenmesinde önemli rol oynadığını bildirmişlerdir. Ayrıca, HAdV-C saha izolatları ile filogenetik karşılaştırma yapıldığında suşların ortalama %97 benzer olduğu; farklılıkların hexon, fiber ve E3 bölgelerinde olduğu bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda da; HAdV C grubunda olduğunu tespit ettiğimiz, 4 adet solunum sistemi örneğinde HAdV 2/6 rekombinasyonu tespit edilmiştir. Literatür incelemesi yapıldığında; Çin’de ciddi akut solunum yolu enfeksiyonu saptanan çocuk hastaların örneklerinde; HAdV 2 ve HAdV 6 rekombinasyonundan oluşan intertipik HAdV 2/6 rekombinantında tuhaf bir kümelenme tespit edildiği (GenBank accession No. KP696777) bildirilmiştir (Li Y ve ark., 2015). Yine aynı çalışmada, HAdV 2/6 rekombinantlarının tam hexon geni analizinde, rekombinasyonun hexon geninin ikinci yarısında görüldüğü bildirilmektedir.

İlginç olarak, bizim çalışmamızda da; non sentinel olarak, yani daha çok alt solunum yolu enfeksiyonu bulgusu olması durumunda hastanelerden gönderilen, 4 nazofarenks sürüntü örneklerinde (2 Ankara, 1 Çorum, 1 Hakkari, 7, 34, 36 ve 44 numaralı örnekler) HAdV 2/6 rekombinasyonu tespit edilmiştir. Bu olgulardan ikisinin çocuk yaş grubunda (2 ve 6 yaş), ikisinin ise erişkin yaş grubunda (54 ve 61 yaş)

olduğu görülmektedir (Çizelge 3.2). Rekombinasyon tespit edilen olgulara ait örneklerin tümünün non-sentinel örnek olması (yani hastanelerden gönderilen olgu örnekleri olması) literatürdekine benzer şekilde kliniklerinin daha ağır olduğuna işaret etmektedir. Bununla birlikte, klinik bulgularla korelasyonun tam olarak gösterilebilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışmamızda tespit edilen rekombinant HAdV 2/6 tipleri; Şekil 3.3'te görülmekte olup, filogenetik olarak Li ve arkadaşlarının tespit ettikleri ve GenBank accession No. KP696777 olarak bildirdikleri suşlar ile yakın benzerlik göstermektedir. Çalışmamız, ülkemizde HAdV 2/6 rekombinant tiplerinin sirküle olduğunu göstermesi bakımından da önem taşımaktadır.

Bu tez çalışmasında insan örnekleri yanı sıra farklı türlere ait AdV'ların hexon gen dizinleri kullanılarak moleküler karakterizasyonu gerçekleştirilmiş olup, hayvansal orijinli 4 koyun ve 3 sığır orijinli referans virus da karakterize edilmiştir. Hexon geni yönünden yapılan parsiyel analizin filogenetik ağaç çiziminde ovine orijinli örneklerden OAdV-1, OAdV-2, OAdV-3 ve OAdV-5'in, yine ovine orijinli hem cinsleri ile yakın dallarda yer aldığı görülmektedir. Benzer şekilde bovine orijinli örneklerden BAdV-1, BAdV-2 ve BAdV-3'ün de bovine orijinli hem cinsleri ile nükleotid benzerlikleri bulunduğu tespit edilmiştir. Bu bağlamda, AdV'ların tür spesifik olduğunu doğrulayan literatürle uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada kullanılan BAdV-2 ve BAdV-3 isimli referenz virusların, hexon gen dizilemesi sonucunda aynı olabilme ihtimali ortaya çıkmış olup, anılan referenz suşlar için aydınlatıcı bilgiye ulaşabilmesi amacıyla tam genom dizilemesi yapılması gerekliliği de gündeme gelmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, ülkemizde 2015-2016 yılları arasında HAdV prevalansını, yaş dağılımını, mevsimsellik ve moleküler epidemiyolojik özelliklerini belgeler niteliktedir. Ülkemizde bulunan HAdV'ler, büyük bir genetik çeşitlilik göstermiştir. B, C, D ve F subgenotipinde etkenlerin ülkemizde varlığı ve sirküle olduğu görülmektedir. İnsanlarda solunum yolu enfeksiyonundan en sık sorumlu olan HAdV tiplerinin B ve C olduğu belirlenmiştir.

Respiratorik sistem enfeksiyonu bulunan bireylerden alınan örneklerde, bu sisteme ait olmayan HAdV tiplerinin (HAdV-F) bulunması, bu enfeksiyöz ajanın patogenezi/tropizminin daha iyi açıklanması gerekliliğini ortaya koymakta, klinisyenler ve halk sağlığı yönünden dikkat edilmesi gereken bir ajan olduğunu göstermektedir.

AdV'lar; meydana getirdikleri enfeksiyonlar yanı sıra, gen terapi ve aşı vektörü olarak kullanım şansı sunan ajanlardır. HAdV-C 2/6 genotipinde bulunan rekombinant suşların ülkemizde varlığı ve sirküle olduğu bilgisi bu tez kapsamında tespit edilmiş olup, bu ajanların ileride yapılacak çalışmalarla tam genomlarının aydınlatılması amaçlanmaktadır.

Farklı türlere ait (bovine ve ovine) AdV'ların tam genom analizleri sayesinde bu virüslara ait genetik yapının aydınlatılması; ileride aşı vektörü olabilme potansiyellerinin sorgulanmasını da sağlayabilecektir.

ÖZET

Farklı Türlerle Ait Adenovirus Hexon Gen Bölgesinin Karşılaştırmalı Analizi

AdV'lar, insanlarda ve hayvanlarda enfeksiyonlara neden olabilmektedir. *Adenoviridae* ailesinde bulunan ve tez çalışmamızda moleküler analizi yapılan insan, sığır ve koyun AdV'ları *Mastadenovirus* genusunda yer almaktadır. Doku tropizmi ve neden oldukları enfeksiyonların ciddiyeti, etkilenen sistem, klinik bulgular, epidemi / endemi yapma karakteristikleri; alt gruplar ve genotipler arasında farklılık göstermektedir. Ülkemizde solunum sistemi enfeksiyonuna neden olan AdV'ların hexon geni moleküler analizi ile, sirküle olan suşların genotipik dağılımının tespitinin hedeflendiği bu tez çalışmasında; 30 pozitif AdV örneğinin (23 insan, 4 koyun ve 3 sığır) hexon geni yönünden parsiyel sekans analizi yapıldı. Ayrıca 4 HAdV-B genotipinin tam hexon geni analizi yapıldı.

Tez bulguları olarak; insanlarda solunum sistemi örneklerinde en sık HAdV- B ve HAdV- C saptanmıştır. En sık genotip, HAdV-B 3 olup, örneklerden dördünde HAdV- C 2/6 rekombinasyonunun saptanması ve 2 solunum sistemi örneğinde gastrointestinal sisteme tropizm gösteren HAdV-F 41 genotipi saptanması dikkat çekicidir. Ayrıca, son yıllarda Asya'da yeniden ortaya çıkan ve ciddi enfeksiyonlara neden olan patojenler olarak bildirilen ve ülkemizde daha önce bildirilmeyen HAdV - B7 genotipi, 1 olguda saptanmış olup bu bulgu önem arz etmektedir. Hexon geni parsiyel analizinde; ovine orijinli örneklerde OAdV-1, OAdV-2, OAdV-3 ve OAdV-5, bovine orijinli örneklerde de BAdV-1, BAdV-2 ve BAdV-3 moleküler olarak karakterize edilmiş olup bu etkenlerin de tür spesifik olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda, insan ve hayvan sağlığı açısından önemli verilere ulaşılmış olup, bu bilgiler Ülkemizde kısıtlı olan AdV moleküler epidemiyolojisine katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Human Adenovirus (HAdV), Bovine Adenovirus (BAdV), Ovine Adenovirus (OAdV), Moleküler Karakterizasyon, Türkiye

SUMMARY

Comparative Analysis of Adenovirus Hexon Gene Region of Different Species

AdVs can cause infections in humans and animals. Human, Bovine and Ovine AdV's molecular analysis of which are investigated in our thesis study, are located in the genus *Mastadenovirus* of *Adenoviridae* family. Tissue tropism and the severity of infections caused, the affected system, clinical findings, epidemic / endemic characteristics varies due to subgroups and genotypes. In this thesis study, it was aimed to determine the genotypic distribution of circulating strains by hexon gene molecular analysis of AdVs causing respiratory system infection in our country; Partial sequence analysis of hexon gene of 30 positive AdV samples (23 human, 4 sheep and 3 cattle) was performed. In addition, full hexon gene analysis of 4 HAdV-B genotypes was performed.

As the findings of thesis; HAdV-B and HAdV-C were the most common pathogens in respiratory system samples of humans. The most common genotype was HAdV-B 3, and it is noteworthy that HAdV-C 2/6 recombination was detected in four samples and HAdV-F 41 genotype showing tropism in the gastrointestinal tract in two respiratory system samples. In addition, HAdV-B7 genotype, which has been reported as pathogens that re-emerged in Asia in recent years and causes serious infections, was found in one case, has not been reported in our country before, and this finding is also important. OAdV-1, OAdV-2, OAdV-3 and OAdV-5 in ovine-derived samples, BAdV-1, BAdV-2 and BAdV-3 in bovine-derived samples were found to be species-specific with the molecular characterisation of hexon gene partial analysis.

In our thesis study, important data for human and animal health have been obtained and this information will contribute to the limited preexisting epidemiology of AdVs in our country.

Keywords: Human Adenovirus (HAdV), Bovine Adenovirus (BAdV), Ovine Adenovirus (OAdV), Molecular Characterisation, Turkey

KAYNAKLAR

- ALLARD A, ALBINSSON B, WADELL G (2001). Rapid typing of human adenoviruses by a general PCR combined with restriction endonuclease analysis. *Journal of clinical microbiology*, **9**: 498-505.
- AGUIRRE AA, BEASLEY VR, AUGSPURGER T, BENSON WH, WHALEY J, BASU N (2016). *Environmental Toxicology and Chemistry*, **10**: 2383 - 2391
- AMPUERO JS, OCAÑA V, GÓMEZ J, GAMERO ME, GARCÍA J, HALSEY ES, LAGUNA-TORRES VA (2012). Adenovirus respiratory tract infections in Peru. *PLoS One*, **7**: e46898.
- ATKINSON R, DHURANDHAR N, ALLISON D, BOWEN R, ISRAEL B, ALBU J, AUGUSTUS A (2005). Human adenovirus-36 is associated with increased body weight and paradoxical reduction of serum lipids. *International journal of obesity*, **29**: 281.
- AZAR MJ, DHALIWAL D, BOWER KS, KOWALSKI RP, GORDON Y (1996). Possible consequences of shaking hands with your patients with epidemic keratoconjunctivitis. *American journal of ophthalmology*, **121**: 711-712.
- BANIK U, ADHIKARY AK, SUZUKI E, INADA T, OKABE N (2005). Multiplex PCR assay for rapid identification of oculopathogenic adenoviruses by amplification of the fiber and hexon genes. *J Clin Microbiol*, **43**: 1064-1068.
- BAUER K, MILLER H, GÜRTÜRK S (1975). *Zentralblatt für Veterinärmedizin*, **22**: 656-65.
- BELAK S, VETESI F, PALFI V, PAPP L (1980). Isolation of a pathogenic strain of ovine adenovirus type 5 and a comparison of its pathogenicity with that of another strain of the same serotype. *Journal of Comparative Pathology*. **2**: 169-176.
- BENSON DA, CLARK K, KARSCH-MIZRACHI I, LIPMAN DJ, OSTELL J, SAYERS EW (2015). *GenBank* **43**: D30-35.
- BLASIOLE DA, METZGAR D, DAUM LT, RYAN MAK, WU J, WILLS C, LE CT, FREED NE, HANSEN C J, GRAY GC, RUSSELL KL (2004). Molecular Analysis of Adenovirus Isolates from Vaccinated and Unvaccinated Young Adults. *Journal of Clinical Microbiology*, **42**: 1686-1693.
- BUCKWALTER SP, TEO R, ESPY MJ, SLOAN LM, SMITH TF, PRITT BS (2012). Real-time qualitative PCR for 57 human adenovirus types from multiple specimen sources. *Journal of clinical microbiology*, **50**: 766-771.

- BUEHLER JW, FINTON RJ, GOODMAN RA, CHOİ K, HİERHOLZER JC, SİKES RK, ELSEA WR, (1984). Epidemic keratoconjunctivitis: report of an outbreak in an ophthalmology practice and recommendations for prevention. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, **5**: 390-394.
- CABASSO VJ, STEBBINS MR, NORTON TW, COX HR (1954). Propagation of infectious canine hepatitis virus in tissue culture. *Proc Soc Exp Biol Med*, **85**: 239- 45.
- CAMACHO C, COULOURİS G, AVAGYAN V, MA N, PAPADOPOULOS J, BEALER K, MADDEN B (2009). BLAST+: architecture and applications. **10**: 421.
- CAMPANELLA JJ, BİTİNCKA L, SMALLEY B (2003). MatGAT: an application that generates similarity/identity matrices using protein or DNA sequences. *BMC Bioinformatics*, **4**: 29.
- CARR MJ, KAJON AE, LU X, DUNFORD L, O'REİLLY P, HOLDER P, DE GASCUN CF, COUGHLAN S, CONNELL J, ERDMAN DD (2011). Deaths associated with human adenovirus-14p1 infections, Europe, 2009–2010. *Emerging infectious diseases*, **17**: 1402.
- CASWELL JL, WILLIAMS KJ (2016). Respiratory System in Jubb Kennedy&Palmer's Pathology of domestic Animals: Volume 2 (Sixth Edition).
- CHEN Y, LİU F, WANG C, ZHAO M, DENG L, ZHONG J, ZHANG Y, YE J, JİNG S, CHENG Z (2016). Molecular identification and epidemiological features of human adenoviruses associated with acute respiratory infections in hospitalized children in Southern China, 2012-2013. *PLoS One*, **11**: e0155412.
- ÇİÇEK C, SANLIDAĞ T, AKÇALI S, SAYAN M, YALAZ M, METİN DY (2012). Molecular typing of adenoviruses isolated from clinical specimens by PCR and DNA sequencing methods. *Mikrobiyoloji bulteni*, **46**: 607-613.
- CONTROL AND PREVENTION (2007). Acute respiratory disease associated with adenovirus serotype 14--four states, 2006-2007. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, **56**: 1181.
- COOPER RJ, HALLETT R, TULLO AB (2000). The epidemiology of adenovirus infections in Greater Manchester, U K 1982- 96. *Epidemiol Infect*, **125**: 333-345.
- D'ANGELO LJ, HİERHOLZER JC, KEENLYSIDE RA, ANDERSON LJ, MARTONE ID (1979). Pharyngoconjunctival fever caused by adenovirus type 4: report of a swimming pool-related outbreak with recovery of virus from pool water. *The Journal of Infectious Diseases*, **140**: 42-47.

- DAMEN M, MİNNAAR R, GLASIUS P, VAN DER HAM A, KOEN G, WERTHEİM P, BELD M (2008). Real-time PCR with an internal control for detection of all known human adenovirus serotypes. *J Clin Microbiol*, **46**: 3997-4003.
- DOĞANAY M, ALP MEŞE EB (2008). In: *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Ed.: Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul. 897-909.
- DOMÍNGUEZ O, ROJO P, DE LAS HERAS S, FOLGUEİRA D, CONTRERAS JR (2005). Clinical presentation and characteristics of pharyngeal adenovirus infections. *The Pediatric infectious disease journal*, **24**: 733-734.
- EBNER K, PİNSKER W, LİON T (2005). Comparative sequence analysis of the hexon gene in the entire spectrum of human adenovirus serotypes: phylogenetic, taxonomic and clinical implications. *J Virol*, **79**: 12635–12642.
- FLOMENBERG P, KOJAOGHLANİAN T, KAPLAN SL (2018). Pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of adenovirus infection. Up to date.com. Erişim Adresi: [<https://www.uptodate.com/contents/pathogenesis-epidemiology-and-clinical-manifestations-of-adenovirus-infection/print>]. Erişim Tarihi: 11/7/2019.
- FLOMENBERG PV, PİASKOWSKI RL, TRUIT T, CASPER ID (1995). Characterization of human proliferative T cell responses to adenovirus. *The Journal of Infectious Diseases*, **171**: 1090-1096.
- FOX JP, HALL CE, COONEY MK (1977). The Seattle virus watch: VII. Observations of adenovirus infections. *American journal of epidemiology*, **105**: 362-386.
- FOY HM, COONEY MK, HATLEN JB (1968). Adenovirus type 3 epidemic associated with intermittent chlorination of a swimming pool. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, **17**: 795-802.
- FRANGE P (2011). Peffault de Latour R, Arnaud C, et al. Adenoviral infection presenting as an isolated central nervous system disease without detectable viremia in two children after stem cell transplantation. *J Clin Microbiol*, **49**: 2361-2364.
- FULTON RW (2009). Viral Diseases of the Bovine Respiratory Tract in: Food Animal Practice (Fifth Edition).
- GARNETT C, ERDMAN D, XU W, GOODİNG V (2002). Prevalence and quantitation of species C adenovirus DNA in human mucosal lymphocytes. *J Virol*, **76**: 10608-10616.

- GARNETT CT, TALEKAR G, MAHR JA, HUANG W, ZHANG Y, ORNELLES DA, GOODING LR (2009). Latent species C adenoviruses in human tonsil tissues. *J Virol*, **6**: 2417- 2428.
- GARON CF, BERRY KW, HIERHOLZER JC, ROSE JA (1973). Mapping of base sequence heterologies between genomes from different adenovirus serotypes. *Virology*, **54**: 414-426.
- GRAY GC, MCCARTHY T, LEBECK MG, SCHNURR DP, RUSSELL KL, KAJON AE, LANDRY ML, LELAND DS, STORCH GA, GINOCCHIO CC (2007). Genotype prevalence and risk factors for severe clinical adenovirus infection, United States 2004–2006. *Clinical Infectious Diseases*, **45**: 1120-1131.
- GREEN M, MACKEY JK, WOLD WSM, RIGDEN P (1979). Thirty-one human adenovirus serotypes (Ad1-Ad31) form five groups (A-E) based upon DNA genome homology. *Virology*, **93**:481-492.
- GU SH, SONG DH, LEE D, HUH K, YOO H, OH HS, JUNG J, WOO KI, KIM M, SEOG W (2017). Complete Genome Sequence of Human Adenovirus Type 55 Associated with Acute Respiratory Disease, Isolated from a Military Base in the Republic of Korea. *Genome Announc*, **5**: e01565-01516.
- HADV WORKING GROUP (2019). Available at: <http://hadvwg.gmu.edu> (accessed 15 March, 2019)
- HOKE JR, SNYDER JR JV (2013). History of the restoration of adenovirus type 4 and type 7 vaccine, live oral (Adenovirus Vaccine) in the context of the Department of Defense acquisition system. *Vaccine*, **31**: 1623-1632.
- HU S-L, HAYS WW, POTTS DE (1984). Sequence Homology Between Bovine and Human Adenoviruses. *Journal of Virology*, **2**: 604-608.
- IMAI Y, KAMEYA S, OHKOSHI M, YAMAKI K, SAKURAGI S (2001). Identification of the hexon region of an adenovirus involved in a new outbreak of keratoconjunctivitis. *Journal of clinical microbiology*, **39**: 2975-2977.
- IRVING J, WANG Z, POWELL S, O'SULLIVAN C, MOK M, MURPHY B, CARDOZA L, LEBKOWSKI JS, MAJUMDAR AS (2004). Conditionally replicative adenovirus driven by the human telomerase promoter provides broad-spectrum antitumor activity without liver toxicity. *Cancer Gene Ther*, **3**:174-85.
- ISHIKO H, SHIMADA Y, KONNO T, HAYASHI A, OHGUCHI T, TAGAWA Y, AOKI K, OHNO S, YAMAZAKI M (2008). Novel human adenovirus causing nosocomial epidemic keratoconjunctivitis. *J Clin Microbiol*, **46**: 2002-2008.

- ISON MG (2006). Adenovirus infections in transplant recipients. *Clinical infectious diseases*, **43**: 331-339.
- ITO M, HIRABAYASHI N, UNO Y, NAKAYAMA A, ASAI J (1991). Necrotizing tubulointerstitial nephritis associated with adenovirus infection. *Human pathology*, **22**: 1225-1231.
- JAIN S, WILLIAMS DJ, ARNOLD SR, AMPOFO K, BRAMLEY AM, REED C, STOCKMANN C, ANDERSON EJ, GRIMALVA CG, SELF WH (2015). Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among US children. *New England Journal of Medicine*, **372**: 835-845.
- JERNIGAN JA, LOWRY BS, HAYDEN FG, KYGER SA, CONWAY BP, GROSCHEL DH, FARR D (1993). Adenovirus type 8 epidemic keratoconjunctivitis in an eye clinic: risk factors and control. *J Infect Dis*, **167**: 1307-1313.
- KAJON AE, LAMSON DM, BAIR CR, LU X, LANDRY ML, MENEGUS M, ERDMAN DD, GEORGE KS (2018). Adenovirus type 4 respiratory infections among civilian adults, Northeastern United States, 2011–2015. *Emerging infectious diseases*, **24**: 201.
- KENMOE S, VERNET M, LE GOFF J, PENLAP VB, VABRET A, NJOUOM R (2018). Molecular characterization of human adenovirus associated with acute respiratory infections in Cameroon from 2011 to 2014. *Virology*, **15**:153
- KING AM, LEFKOWITZ E, ADAMS MJ, CARSTENS EB (2011). Virus taxonomy: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, Elsevier.
- KING D, JOHNSON B, MILLER D, LONDON EM, DEVRIES A, FULLER S, HARPER J, LYNFIELD R, ALELI K, HIGH P (2013). Adenovirus-associated epidemic keratoconjunctivitis outbreaks—four states, 2008–2010. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, **62**: 637.
- KOJAOGHLANIAN T, FLOMENBERG P, HORWITZ MS (2003). The impact of adenovirus infection on the immunocompromised host. *Reviews in medical virology*, **13**: 155-171.
- KOLAVIC-GRAY SA, BINN LN, SANCHEZ JL, CEROSOVSKY SB, POLYAK CS, MITCHELL-RAYMUNDO F, ASHER LV, VAUGHN DW, FEIGHNER BH, INNIS BL (2002). Large epidemic of adenovirus type 4 infection among military trainees: epidemiological, clinical, and laboratory studies. *Clinical Infectious Diseases*, **35**: 808-818.
- KOWALSKI RP, GORDON Y (1989). Comparison of direct rapid tests for the detection of adenovirus antigen in routine conjunctival specimens. *Ophthalmology*, **96**: 1106-1109.

- KUMAR S, STECHER G, LÌ M, KNYAZ C, AND TAMURA K (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* (<https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>).
- LANKESTER A, VAN TOL M, CLAAS E, VOSSEN J, KROES D (2002). Quantification of adenovirus DNA in plasma for management of infection in stem cell graft recipients. *Clinical Infectious Diseases*, **34**: 864-867.
- LARRAÑAGA C, KAJON A, VÍLLAGRA E, AVENDAÑO LF. Adenovirus surveillance on children hospitalized for acute lower respiratory infections in Chile (1988-1996) (2000). *J Med Virol*, **60**:342–346.
- LEE J, CHOI EH, LEE HJ (2010). Clinical severity of respiratory adenoviral infection by serotypes in Korean children over 17 consecutive years (1991–2007). *Journal of Clinical Virology*, **49**: 115-120.
- LEHMKUHL HD, CUTLIP RC, BOLIN SR, BROGDEN KA (1985). Seroepidemiologic survey for antibodies to selected viruses in the respiratory tract of lambs. *Am J Vet Res*, **46**: 2601-2604.
- LEHMKUHL HD, CUTLIP RC, BROGDEN KA (1993). Seroepidemiologic survey for adenovirus infection in lambs. *Am J Vet Res*, **54**: 1277-1279.
- LENAERTS L, DE CLERCQ E, NAESENS L (2008). Clinical features and treatment of adenovirus infections. *Reviews in medical virology*, **18**: 357-374.
- LÌ Y, ZHOU W, ZHAO Y, WANG Y, XÌE Z, LOU Y, WANG Y, XÌE Z, LOU Y, TAN W (2015). Molecular Typing and Epidemiology Profiles of Human Adenovirus Infection among Paediatric Patients with Severe Acute Respiratory Infection in China. *PLoS ONE* **10**: e0123234.
- LU X, ERDMAN V (2006). Molecular typing of human adenoviruses by PCR and sequencing of a partial region of the hexon gene. *Archives of Virology*, **151**: 1587-1602.
- LUKASHEV AN, IVANOVA OE, EREMEEVA TP, IGGO RD (2008). Evidence of frequent recombination among human adenoviruses. *Journal of General Virology*, **89**: 380–388.
- LUNDSTROM K (2003). Latest development in viral vectors for gene therapy. *Trends in biotechnology*, **21**: 117-122.
- MAJHEN D, CALDERON H, CHANDRA N, FAJARDO CA, RAJAN A, ALEMANY R, CUSTERS J. Adenovirus based vaccines for fighting Infectious diseases and Cancer: Progress in the Field (2014). *Human Gene Therapy*, **4**

- MALMBERG M, RUBÍO-GUERRÍ C, HAYER J, GARCÍA-PÁRRAGA D, NIETO-PELEGRÍN E, MELERO M, ÁLVARO T, VALLS M, SÁNCHEZ-VÍZCAÍNO JM, BELÁK S, GRANBERG F (2017). Phylogenomic analysis of the complete sequence of a gastroenteritis-associated cetacean adenovirus (bottlenose dolphin adenovirus 1) reveals a high degree of genetic divergence. *Infect Genet Evol*, **53**: 47-55.
- MANDELL G, DOLÍN R, BENNETT J (2009). Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases, Elsevier.
- MARTÍN AB, WEBBER S, FRICKER FJ, JAFFE R, DEMMLER G, KEARNEY D, ZHANG YH, BODURTHA J, GELB B, NÍ J (1994). Acute myocarditis. Rapid diagnosis by PCR in children. *Circulation*, **90**: 330-339.
- MARTÍN DP, MURRELL B, GOLDEN M, KHOOSAL A, MUHIRE B (2015). RDP4: Detection and analysis of recombination patterns in virus genomes. *Virus Evolution* 1, vev00
- MARTIN WB (1983). Respiratory diseases induced in small ruminants by viruses and mycoplasma. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*, **2**: 311-334.
- MAXAM AM, GILBERT W (1977). A new method for sequencing DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **74**: 560-564.
- MCFERRAN JB, NELSON R, MCCracken JM, ROSS JG (1969). *Nature*, **221**: 194-5.
- MUFSON MA, BELSHE RB (1976). A review of adenoviruses in the etiology of acute hemorrhagic cystitis. *The Journal of urology*, **115**: 191-194.
- MUHIRE BM, VARSANI A, MARTÍN O (2014). SDT: a virus classification tool based on pairwise sequence alignment and identity calculation. *PloS one*, **9**: e108277.
- MUNOZ FM, FLOMENBERG P, EDWARDS MS, BOND S, TORCHIA MM (2018). Diagnosis, treatment, and prevention of adenovirus infection. Up to date.com. Erişim Adresi: [https://www.uptodate.com/contents/diagnosis-treatment-and-prevention-of-adenovirus-infection]. Erişim Tarihi: 11/7/2019.
- MUNOZ RE, PIEDRA PA, DEMMLER GJ (1998). Disseminated adenovirus disease in immunocompromised and immunocompetent children. *Clinical Infectious Diseases*, **27**: 1194-1200.
- MYEROWITZ RL, STALDER H, OXMAN MN, LEVIN MJ, MOORE M, LEITH JD, GANTZ NM, PELLEGRINI J, HIERHOLZER JC (1975). Fatal disseminated adenovirus infection in a renal transplant recipient. *The American Journal of Medicine*, **59**: 591-598.

- NALÇA ERDİN B (2012). Keratokonjonktivit yapan adenovirusların genotip prevalansı, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- NAVA M (2015). Adenovirus small e1a regulates host cell transcription, UCLA. *eScholarship*.
- NEOFYTOS D, OJHA A, MOOKERJEE B, WAGNER J, FİLİCKO J, FERBER A, DESSAİN S, GROSSO D, BRUNNER J, FLOMENBERG OB (2007). Treatment of adenovirus disease in stem cell transplant recipients with cidofovir. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, **13**: 74-81.
- PONTERIO E, GNESSI L (2015). Adenovirus 36 and obesity: an overview. *Viruses*, **7**: 3719-3740.
- RADİN JM, HAWKSWORTH AW, BLAIR PJ, FAIX DJ, RAMAN R, RUSSELL KL, GRAY D (2014). Dramatic decline of respiratory illness among US military recruits after the renewed use of adenovirus vaccines. *Clinical Infectious Diseases*, **59**: 962-968.
- RUSSELL W (2000). Update on adenovirus and its vectors. *Journal of general virology* **81**: 2573-2604.
- SAHA B, WONG C, PARKS R (2014). The adenovirus genome contributes to the structural stability of the virion. *Viruses*, **6**: 3563-3583.
- SAİTOH-INAGAWA W, TANAKA K, UCHİO E, ITOH N, OHNO SAOKI K (2001). Genome typing of adenovirus type 34 isolated in two cases of conjunctivitis in Sapporo, Japan. *Journal of clinical microbiology* **39**: 4187-4189.
- SAMBROOK JM, SLEIGH JA, ENGLER A, BROKER TR (1980). The evolution of the adenoviral genome. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **354**:426-452.
- SARANTIS H, JOHNSON G, BROWN M, PETRIC M, TELLIER R (2004). Comprehensive detection and serotyping of human adenoviruses by PCR and sequencing. *Journal of Clinical Microbiology*, **42**: 3963-3969.
- SCHNELL M A, ZHANG Y, TAZELAAR J, GAO GP, YU Q, QIAN R, CHEN SJ, VARNAVSKI AN, LECLAIR C, RAPER T (2001). Activation of innate immunity in nonhuman primates following intraportal administration of adenoviral vectors. *Molecular Therapy*, **3**: 708-722.
- SCOTT MK, CHOMMANARD C, LU X, APPELGATE D, GRENZ L, SCHNEIDER E, GERBER SI, ERDMAN DD, THOMAS A (2016). Human adenovirus associated with severe respiratory infection, Oregon, USA, 2013–2014. *Emerging infectious diseases*, **22**: 1044.

- SENER K, YAPAR M, GUENEY C, KUBAR A, KİLİC A, ALTAYLI E, BAŞUSTAOĞLU A (2009). Investigation of the presence and subgroups of adenoviruses in nasopharyngeal samples of military recruits with respiratory tract infections. *Mikrobiyoloji bulteni*, **43**: 91-101.
- SHARP JM, RUSHTON B, RIMER RD (1976). *J. comp. Path.*, **86**: 621-628.
- SHARP JM (1977). Thesis, University of Edinburgh.
- SIBLEY SD, GOLDBERG TL, PEDERSEN JA (2011). Detection of known and novel adenoviruses in cattle wastes via broad-spectrum primers. *Appl Environ Microbiol.* **77**:5001–5008.
- TABAİN I, LJUBİN-STERNAK S, CEPİN-BOGOVIĆ J, MARKOVIĆ L, KNEZOVIĆ I, MLINARIĆ-GALINOVIĆ G (2012). Adenovirus respiratory infections in hospitalized children: clinical findings in relation to species and serotypes. *The Pediatric infectious disease journal*, **31**: 680-684.
- TAKEUCHI S, ITOH N, UCHIO E, AOKI K, OHNO S (1999). Serotyping of adenoviruses on conjunctival scrapings by PCR and sequence analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, **37**: 1839-1845.
- TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, FİLİPSKI A (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Kumar and evolution*, **30**: 2725-2729.
- TERLETSKAIA-LADWIG E, LEINMÜLLER M, SCHNEIDER F, MEIER S, ENDERS M (2007). Laboratory approaches to the diagnosis of adenovirus infection depending on clinical manifestations. *Infection*, **35**: 438-443.
- TOP JR FH, DUDDING BA, RUSSELL PK, BUESCHER EL (1971). Control of respiratory disease in recruits with types 4 and 7 adenovirus vaccines. *American Journal of Epidemiology*, **94**: 142-146.
- TSOU TP, TAN BF, CHANG HY, CHEN WC, HUANG YP, LAI CY, Chao YN, Wei SH, Hung MN, Hsu LC, Lu CY, Shao PL, Mu JJ, Chang LY, Liu MT, HUANG LM (2012). Community outbreak of adenovirus, Taiwan, 2011. *Emerging infectious diseases*, **18**: 25–1832.
- UZAL FA, PLATNER BL, HOSTETTER JM (2016). Chapter 1: Alimentary System. 2: 1-257 In: Jubb Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Vol:2, Sixth Edition
- VELLINGA JS, HEIJDT VD, HOEBEN RC (2005). The adenovirus capsid: major progress in minor proteins. *Journal of General Virology*, **86**: 1581-1588.

- VELTROP-DUIJTS LA, VREESWIJK VT, HEEMSKERK B, THIJSEN JC, EL SEADY R, JOL-VAN DER ZIJDE EM, CLAAS EC, LANKESTER AC, VAN TOL MJ, SCHILHAM MW (2011). High titers of pre-existing adenovirus serotype-specific neutralizing antibodies in the host predict viral reactivation after allogeneic stem cell transplantation in children. *Clinical Infectious Diseases*, **52**: 1405-1413.
- VIDOVSKY MZ, SZEREDI L, DOSZPOLY A, HARRACH B, HORNYÁK A (2019). Isolation and complete genome sequence analysis of a novel ovine adenovirus type representing a possible new mastadenovirus species. *Archives of Virology*, **164**:2205–2207.
- VORBURGER SA, HUNT KK (2002). Adenoviral gene therapy. *The oncologist* **7**: 46-59.
- WADELL G, HAMMARAKJOLD ML, WINBERG G, VARSANYI TM, SUNDELL G (1980). Genetic variability of adenoviruses. *Ann Ny Acad Sci* **354**:16-42.
- WU T, WU H, ZHAO K, HU C, GE Y, ZHU X, ZHANG X, ZHOU M, ZHU F, CUI L (2019). Rapid detection of human mastadenovirus species B by recombinase polymerase amplification assay. *BMC Microbiol* **19**:8.
- XU MY, CAO B, WANG DF, GUO JH, CHEN KL, SHI M, YIN J, LU QB (2015). Human adenovirus 36 infection increased the risk of obesity: a meta-analysis update. *Medicine* **94**.
- YING B, TOLLEFSON AE, SPENCER JF, BALAKRISHNAN L, DEWHURST S, CAPELLA C, BULLER RML, TOTH K (2014). Ganciclovir inhibits human adenovirus replication and pathogenicity in permissive immunosuppressed Syrian hamsters. *World and chemotherapy*, **58**: 7171-7181.
- YU P, MA C, NAWAZ M, HAN L, ZHANG J, DU Q, ZHANG L, FENG Q, WANG J, XU J (2013). Outbreak of acute respiratory disease caused by human adenovirus type 7 in a military training camp in Shaanxi, China. *Microbiol Immunology*, **57**:553-560.
- ZHANG W, HUANG L (2019). Genome Analysis of a Novel Recombinant Human Adenovirus Type 1 in China. *Nature Scientific Report*, **9**:4298.

EKLER

Ek-1. Etik Kurul Raporu

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Farklı türlere ait adenovirus hexon gen bölgesinin karşılaştırmalı analizi			
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU		-			
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu			
	AÇIK ADRESİ:	Etik Kurul Sekreterliği Eğitim Merkezi Danışma Birimi B Blok -1.Kat Altındağ Ankara			
	TELEFON	0312508 5158-5174			
	FAKS	3125084938			
	E-POSTA	aneahetikkurul@gmail.com			
BASVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Uzm. Dr.Aliye Baştuğ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ankara			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ	-			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
		In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
		İlaç dışı klinik araştırma	☐		
Diğer ise belirtiniz: Analitik çalışma					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Farklı türüne ait adenovirüs besinleri için bütçesinin karşılaştırılması analizi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-

DEĞERLENDİRİLEN BİLGİLER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	OKU
DEĞERLENDİRİLEN BİLGİLER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN BİLGİLER	Belge Adı			Açıklama
DEĞERLENDİRİLEN BİLGİLER	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒		
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	ILAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
	DİĞER	☐		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 1348/2017	Tarih: 29.03.2017		
Yukarıda bilgileri verilen Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji Kliniği'nden Uzm. Dr. Aliye Bağcıoğlu tarafından yapılan ve Uzm. Dr. Aliye Bağcıoğlu'nun doktora tezi olan "Farklı türüne ait adenovirüs besinleri için bütçesinin karşılaştırılması analizi" isimli klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerektirdiği, amaç, yükümlülük ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlere gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıda katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.				

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Baş ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönermelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI	Prof. Dr. Süreyya BARUN

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişkisi	Katılım *	İmza
Prof. Dr. Hürrem BOĞUR	Prof. Hast. ve K. Mikrobiyoloji	Ankara Numune EAH	E ☒ K ☐	E ☒ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Süreyya BARUN	Tıbbi Farmakoloji	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Ahmet Deniz BELEN	İşyeri Cerrahi	Ankara Numune EAH	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Adem ÖZKARA	Adli Hekimliği	Ankara Numune EAH	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. İsmail ÖZKOÇAK TURAN	Anestesi ve Reanimasyon	Ankara Numune EAH	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Seren KULACIOĞLU	Pediyatri	Ankara Numune EAH	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Aliş TUNCEL	Üroloji	Ankara Numune EAH	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Doç. Dr. Doğan UNCU	Tıbbi Onkoloji	Ankara Numune EAH	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. İsmail KARABULUT	Fizyoloji	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	
Uzm. Dr. Dilek KANYILMAZ	Halk Sağlığı	Ankara Numune EAH	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Süreyya BARUN
İmza:

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı: Aliye Tanrııcı Baştuğ

Doğum yeri ve tarihi: Antakya /Hatay, 12/07/1980

Uyruğu: TC

Medeni durumu: Evli

İletişim adresi ve telefonu: Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Şehir Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Üniversiteler mahallesi Bilkent/ ANKARA

Tel: +90 505 681 42 23 (GSM)

Doğum Yeri ve Tarihi: Antakya / HATAY – 12.07.1980

II- Eğitimi:

2017 Doçentlik SBÜ Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji

2014 Viroloji Doktora eğitimi Ankara üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Viroloji Anabilim dalı

2010 Tıpta Uzmanlık

2005 – 2010 ANEAH Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Araş. Gör.

1997 – 2004 Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Lisans Eğitimi

1993 -1997 Antakya Lisesi

1987 -1993 Cumhuriyet İlkokulu

III- Ünvanları

2005 Asistan Doktor

2010 Uzman Doktor

2013 Başasistan

2017 Doçent Doktor

IV- Mesleki Deneyimi

Mayıs 2019 Doçent Doktor (Öğretim Üyesi), Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Şehir Hastanesi

Aralık 2018 Doçent Doktor (Öğretim Üyesi), Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Mart 2017 Doçent Doktor (Başasistan-Eğitim Görevlisi), Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi

2014 – 2019 Ankara Üniversitesi/Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Viroloji (Doktora)

2017-2018 Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Kontrol Hekimi

Mart 2013 Uzman Hekim (Başasistan), Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi

2010-2013 Uzman Hekim, Manavgat Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Kontrol Komitesi Başkanı

2005-2010 Araştırma Görevlisi, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türkiye Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (EKMUD)

Viral Hepatitle Savaşım Derneği (VHSD)

Türk Hastane İnfeksiyonları ve Kontrolü Derneği (HİDER)

Febril Nötropeni Derneği (FEN)

Dezenfeksiyon Antisepsi Sterilizasyon Derneği (DAS)

YAYINLARI

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

CEVİK MA, ERBAY A, BODUR H, GULDEREN E, BASTUG A, KUBAR A, AKİNCİ E. "Clinical and laboratory features of Crimean-Congo haemorrhagic fever: predictors of fatality". *Int J Infect Dis*. 2008;12, 374-379

ERBAY A, BODUR H, AKINCI E, BASTUG A, CEVİK MA. Brucellosis mimicking enteric fever. *Journal of Infection in Developing Countries*.01/2009; 3(3):239-40.

BODUR H, AKİNCİ E, ONGÜRÜ P, CARHAN A, UYAR Y, TANRİCİ A, CATALOLUK O, KUBAR A. Detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus genome in saliva and urine. *Int J Infect Dis*. 2010 Mar;14(3): e247-9. Epub 2009 Aug 4.

BASTUG A, YILMAZ GR, KAYAASLAN B, AKINCI E, BODUR H. Risk factors for mortality in patients with nosocomial Staphylococcus aureus bacteremia. *Turk J Med Sci* 2012; 42 (Sup.1): 1222-1229

YILMAZ GR, BASTUG A, BUT A, YILDIZ S, YETKİN MA, KANYILMAZ D, AKINCI E, BODUR H. Clinical and microbiological efficacy and toxicity of colistin in patients infected with multidrug-resistant gram-negative pathogens. *Journal of infection and chemotherapy: official journal of the Japan Society of Chemotherapy*. 2012 Jul 18.

KAYAASLAN B, AKINCI E, BASTUG A, EREN SS, ÖNGÜRÜ P, BUT A, YETKİN MA, BODUR H. Analysis of 161 Adult Patients with Brucellosis. *Turk J Med Sci* 2013; 43:187-193

BASTUG A, BUT A, SERTÇELİK A, KAYAASLAN B, AKINCI E, ONGÜRÜ P, ASLANER H, EREN SS, YETKİN MA, BODUR H. Acute hepatitis A concomitant with Graves' disease. *Int J Med Sci Public Health*. 2014; 3(3):- Doi: 10.5455/ijmsph. 2014.080120141

KAYAASLAN B, ÖNGÜRÜ P, SERTÇELİK A, BASTUG A, MUMCUOĞLU I, ASLANER H, BUT A, EREN SS, YETKİN MA, AKINCI E, BODUR H. Fever of Unknown Origin Owing to Salmonellosis with Nalidixic Acid Resistant Salmonella Schottmuelleri: A Case Report. *Int J Med Sci Public Health*. 2014; 3(6)- Doi: 10.5455/ijmsph. 2014.170420141

BASTUG A, KAYAASLAN B, BUT A, ASLANER H, SERTÇELİK A, AKİNCİ E, ONGURU P, YETKİN MA, BODUR H. A Case of Crimean–Congo Hemorrhagic Fever Complicated with Acute Pancreatitis. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*. 2014; 14 (11): DOI:10.1089/vbz.2014.1623

BASTUG A, BODUR H. Ebola Viral Disease: What should be done to combat the epidemic in 2014? *Turk J Med Sci*. 2015; 45:1-5.

ARCAN P, OKUDAN TEKİN B, ŞEFİZEDE R, NALDÖKEN S, BASTUG A, ÖZKURT B The role of bone SPECT/CT in the evaluation of painful joint prostheses. *Nucl Med Commun*. Volume 36, Number 9, September 2015, pp. **931-940 (10)**

BASTUG A, KAYAASLAN B, KAZANCI OĞLU S, BUT A, ASLANER H, AKİNCİ E, YETKİN M.A, KANYILMAZ D, EREN S, BODUR H. Emergence of multidrug resistant isolates and mortality predictors in patients with solid tumors or hematological malignancies. *Journal of Infection in Developing Countries*. 2015. 9:1100-1107.

SUNBUL M, LEBLEBİCİOĞLU H, FLETCHER TE, ELALDİ N, OZKURT Z, BASTUG A, YILMAZ G, GUNER R, DUYGU F, BEECHING NJ . Crimean-Congo haemorrhagic fever and secondary bacteraemia in Turkey. *J Infect.*2015 Nov;71(5):597-9.

TUFAN ZK, ESER FC, VUDALİ E, BATİREL A, KAYAASLAN B, BASTUG A, ERAY D, TURHAN V, DUYGU F, TOK D, ALTUN S, BULUT C, TASYARAN M.A. The Knowledge of the Physicians about Sepsis Bundles is Suboptimal: A Multicenter Survey *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 2015 July; 9 (7): 13-16. DOI: 10.7860/JCDR/2015/12954.6220

BASTUG A, KAYAASLAN B, KAZANCI OĞLU S, ASLANER H, BUT A, AKİNCİ E, YETKİN MA, EREN S, BODUR H. Prognostic factors in Crimean-Congo hemorrhagic fever and the effect of leukocyte counts on mortality. *Jpn J Infect Dis.* 2016 Vol: 69 No:1 pp 51-55.

YAVAŞ S, YETKİN MA, KAYAASLAN B, BASTUG A, ASLANER H, BUT A, KANYILMAZ D, SARI B, AKİNCİ E, BODUR H. Investigating the in vitro synergistic activities of several antibiotic combinations against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. *Turk J Med Sci* (2016) 46: 892-896

KAYAASLAN B, BASTUG A, AYDIN E, AKINCI E, BUT A, ASLANER H, YETKİN M.A, BODUR H.A Long-term Survey of Brucellosis: Is There Any Marker To Predict The Complicated Cases? *Infectious Disease.* 2016, Volume 48, - [Issue 3](#).

KAZANCI OĞLU S, AKINCI E, BASTUG A, KAYAASLAN B, BUT A, ASLANER H, EREN SS, YETKİN MA, BODUR H. Does the course of laboratory parameters help us to predict the outcome of CCHF? *Turk J Med Sci* (2016) 46: 328-334

BASTUG A, KISLAK S, MUTLU NM, AKCABOY ZN, KOKSAL A, SERTCELİK A, UNLU R.E, AKINCI E, BODUR H. Necrotizing fasciitis due to the *Streptococcus mitis* caused by accidental human bite. *Journal of Infection in Developing Countries.* 2016, 10:100-102.

KARACAER Z, CAKİR B, ERDEM H, UGURLU K, DURMUS G, INCE NK, OZTURK C, RODRİGO H, İNCİ A, TİGEN ET, KARAAHMETOĞLU G, COSKUNER SA, DİK E, TARAKCI H, TOSUN S, KORKMAZ F, KOLGELİER S, EROL S, TURKER K, NECAN C, SAHİN AM, ERGEN P, İSKENDER G, KORKMAZ P, EROĞLU EG, DURDU Y, ULUG M, BASTUG A, , OZKAYA HD, PARLAK E, YAVUZ İ, SACAR S, COMOĞLU S, YENİLMEZ E, GUNER R, KADANALİ A, ORMECİ N. Quality of life and related factors among chronic hepatitis B-infected patients: a multi-center study, Turkey. *Health and Quality of Life Outcomes*2016, 14:153

YILMAZ PÖ, MUTLU N.M, SERTCELİK A, BASTUG A, DOĞU C, KİSLAK S. Linezolid and dexamethasone experience in a serious case of listeria rhombencephalitis. *Journal of Infection and Public Health* 2016, Vol 9 (5): 670-74.

DEMİR Z.C, BASTUG A, BODUR H, ERGUNAY K, OZKUL A. MicroRNA expression profiles in patients with acute Crimean Congo hemorrhagic fever reveal possible adjustments to cellular pathways *J. Med. Virol.* 2017, 89:417–422.

BUT A, YETKİN M.A, KANYILMAZ D, ASLANER H, BASTUG A, AYPAK A, ÖNGÜRÜ P, AKİNCİ E, MUTLU NM, BODUR H. Analysis of epidemiology and risk factors for mortality in ventilator-associated pneumonia attacks in intensive care unit patients. *Turk J Med Sci* (2017) 47: 812-816.

TOSUN S, BATİREL A, OLUK AI, AKSOY F, PUCA E, BÉNÉZİT F, URAL S, NAYMAN-ALPAT S, YAMAZHAN T, KOKSALDI MV, TEKİN R, PARLAK E, TATTEVİN P, YASAR KK, GUNER R, BASTUG A, MERİC MK, ONCU S, SAGMAK AT, DENK A, PEHLİVANOĞLU F, SENGÖZ G, SØRENSEN SM, CELEBİ G, BAŠTÁKOVÁ L, GEDİK H, DİRGEN CS, ESMAOĞLU A, EROL

S, CAG Y, KARAGOZ E, INAN A, ERDEM H. Tetanus in adults: results of the multicenter IDI- IRIS Study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017 Aug;36(8):1455-1462.

OZEN Y, BASTUG AT, ONGURU P, AKİNCİ E, YETKİN MA, PEPE F, BODUR H. Evaluation of Geriatric Infections in Past Six Years. *Turkish Journal of Geriatrics*. Jul2017, Vol. 20 Issue 2, p82-90.

OZDEMİR B, YETKİN MA, BASTUG A, BUT A, ASLANER H, AKINCI E, BODUR H (2018). Evaluation of epidemiological, clinical, and laboratory features and mortality of 144 HIV AIDS cases in Turkey, *HIV Clinical Trials*, 19:2,6974.

ESTRADA S.R, LAGUNES L, LÓPEZ Y.P, AZIMI A.V, NSEIR S, ARVANITI K, BASTUG A, TOTORIKI I, OZTOPRAK N, BOUADMA L, KOULENTI D, RELLO J, the EU-VAE Study Investigators Group. Assessing predictive accuracy for outcomes of ventilator-associated events in an international cohort: the EUVAE study. *Intensive Care Medicine* (first online: 12 July 2018) <https://doi.org/10.1007/s00134-018-5269-7>

FARZANİ TA, FÖLDES K, ERGÜNAY K, GURDAL H, BASTUG A, ÖZKUL A. Immunological Analysis of a CCHFV mRNA Vaccine Candidate in Mouse Models *Vaccines* (Basel). 2019 Sep; 7(3): 115.

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler:

BASTUG AT, HUNER MA, AKİNCİ E, ERBAY A, CEVİK MA, BODUR H. "Chronic mucocutaneous candidiasis with secondary adrenal insufficiency: a case report". R2164, *Clinical Microbiology and Infection*, Volume 12, Supplement 4. 16th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, April 1-4, Nice, France, 2006

BASTUG AT, ERBAY A, BODUR H, AKİNCİ E, CEVİK MA "Hepatobiliary ascariasis: a case report". P1088, *Clinical Microbiology and Infection*, Volume 12, Supplement 4. 16th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, April 1-4, Nice, France, 2006

ERBAY A, BODUR H, AKİNCİ E, BASTUG A, CEVİK MA "Enteric fever due to *Brucella melitensis*: a case report". P1521. 17th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 31 March- 3 April 2007, Munich, Germany. *Clinical Microbiology & Infection*. 13 Supplement 1:S426, April 2007.

CEVİK MA, ERBAY A, BODUR H, GULDEREN E, BASTUG A, KUBAR A, AKİNCİ E. "Clinical and laboratory features of Crimean-Congo haemorrhagic fever: predictors of fatality"; P1040. 17th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 31 March- 3 April 2007, Munich, Germany. *Clinical Microbiology & Infection*. 13 Supplement 1: S426, April 2007.

KANYILMAZ D, YETKİN MA, ASLANER H, KAYAASLAN B, BAŞTUĞ A, ONGURU P, CİNARBAŞ I, AVCI N, YABAN B, UN A, ULUTAŞ G, AYVAZ E, AKINCI E, BODUR H. The 5th EURASIA Congress of Infectious Diseases konferansı dahilinde "The 5th EURASIA Congress of Infectious Diseases, Abstract Book" bildiri kitapçığındaki "Evaluation of the appropriateness of surgical prophylaxis and antibiotic use in an education and research hospital", P30, 148 pp., Tirana, Albania, 15-18 May 2013.

KAYAASLAN B, ONGÜRÜ P, SERTÇELİK A, BASTUG AT, ASLANER H, BUT A, EREN S, YETKİN MA, AKINCI E, BODUR H. The 5th EURASIA Congress of Infectious Diseases konferansı dahilinde "The 5th EURASIA Congress of Infectious Diseases, Abstract Book" bildiri kitapçığındaki "A delay in diagnosis of Salmonellosis caused by nalidixic acid resistant *Salmonella schottmuelleri*", P176, 249 pp., Tirana, Albania, 15-18 May 2013.

BASTUG AT, BUT A, SERTÇELİK A, KAYAASLAN B, AKINCI E, ONGÜRÜ P, ASLANER H, EREN S, YETKİN MA, BODUR H. The 5th EURASIA Congress of Infectious Diseases konferansı dahilinde "The 5th EURASIA Congress of Infectious Diseases, Abstract Book" bildiri kitapçığındaki "Acute hepatitis A concomitant with Graves disease", P177, 249-250 pp., Tirana, Albania, 15-18 May 2013.

AKINCI E, BASTUG AT, KAYAASLAN B, EREN S, ONGÜRÜ P, BUT A, ASLANER H, YETKİN MA, BODUR H. The 5th EURASIA Congress of Infectious Diseases konferansı dahilinde "The 5th EURASIA Congress of Infectious Diseases, Abstract Book" bildiri kitapçığındaki "An experience from Eurasia for the treatment of chronic hepatitis B", P181, 252 pp., Tirana, Albania, 15-18 May 2013.

YETKİN MA, KANYILMAZ D, ASLANER H, KAYAASLAN B, BASTUG A, BUT A, ONGURU P, EREN S, ULUTAŞ G, AYVAZ E, MUMCUOĞLU I, AKSU E, AKINCI E, BODUR H. "The 5th EURASIA Congress of Infectious Diseases, Abstract Book" bildiri kitapçığındaki " Evaluation of device-associated infections in a medical/surgical intensive care unit, in a tertiary care hospital", P305, 338-339 pp., Tirana, Albania, 15-18 May 2013.

KANYILMAZ D, YETKİN MA, ASLANER H, KAYAASLAN B, BASTUG A, ONGURU P, BUT A, EREN S, AKINCI E, BODUR H. The 5th EURASIA Congress of Infectious Diseases, Abstract Book" bildiri kitapçığındaki " Evaluation of intraabdominal infections after surgical operations ", P308, 341 pp., Tirana, Albania, 15-18 May 2013.

AKINCI E, KAYAASLAN BU, BASTUG AT, EREN SS, ÖNGÜRÜ P, BODUR H. 23rd Conference of APASL bildiri kitapçığındaki "Does good patient compliance increase the sustained virological response in chronic hepatitis C genotype 1 infection?", 370 pp., Singapore, 6-10 June 2013.

YILMAZ S, YETKİN MA, BASTUG A, KAYAASLAN B, ASLANER H, KANYILMAZ D, SARI B, AKINCI E, BODUR H. In vitro antimicrobial synergy testing of colistin with sulbactam, meropenem, tigecycline against carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care unit patients by using Etest. IDWeek 2013, Advancing Science and Improving Care Diagnostic Microbiology; Antimicrobial Sensitivities, P:248, San Francisco, October 2-6, 2013.

BODUR H, AKINCI E, KAYAASLAN BU, BASTUG AT, EREN SS, ONGURU P, BUT A, ARSLANER H, YETKİN MA, AYDİN E. 23rd Annual Conference of APASL dahilinde "23rd Annual Conference of APASL" bildiri kitapçığındaki "Safety of Treatment With Nucleoside/ Nucleotide Analogues in Chronic Hepatitis B: Evaluation of Ten-Year Period", P257, 77 pp., Brisbane, Australia, March 12-15, 2014.

BODUR H, AKINCI E, BASTUG AT, KAYAASLAN BU, EREN SS, ONGURU P, BUT A, ASLANER H, YETKİN MA, AYDİN E. 23rd Annual Conference of APASL dahilinde "23rd Annual Conference of APASL" bildiri kitapçığındaki "The Factors Effecting Virological Response At Week 48 in Chronic Hepatitis B Patients Under The Therapy With Nucleoside / Nucleotide Analogues", P258, 77-78 pp., Brisbane, Australia, March 12-15, 2014.

AKSU N, BARAN I, YETKİN MA, KANYILMAZ D, MUMCUOĞLU I, BASTUG A, ALACAM S, YAGMURDUR H, BODUR H. "24th ECCMID European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases" bildiri kitapçığındaki "Molecular epidemiology and surveillance of MDR *Pseudomonas* and *Acinetobacter* Carbapenem Resistant *Acinetobacter Baumannii* in Adult Intensive Care Unit: Risk Factors For Colonisation and Infection ", P- 1006, Barcelona, Spain, May 10- 13, 2014.

YETKİN MA, KANYILMAZ D, KAYAASLAN B, BASTUG A, KESİM S, YILDIZ S, ASLANER H, BUT A, ONGURU P, AKINCI E, BODUR H. "24th ECCMID European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases" bildiri kitapçığındaki, Epidemiologic features and risk factors for intensive care associated *Acinetobacter baumannii* infections in elderly patients, R-489, Barcelona, Spain, May 10-13, 2014.

ESER FC, TUFAN ZK, VUDALİE, BATİRELA, KAYAASLAN B, BASTUG A, ERAY D, TURHAN V, DUYGU F, TOK D. "24th ECCMID European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases" bildiri kitapçığındaki "A survey of physicians' knowledge on evaluation of sepsis bundles: a multicenter study", R-683, Barcelona, Spain, May 10-13, 2014.

BASTUG A, KAYAASLAN B, KAZANCIOGLU S, ASLANER H, BUT A, AKINCI E, YETKİN MA, EREN S, BODUR H. "Association of Mortality with Leukocyte Distribution in Crimean-Congo Hemorrhagic Fever: Twelve Years Experience in A Retrospective Case Control Study", P-767, Philadelphia, USA, IDWeek 2014, October 8-12, 2014.

BASTUG A, KAYAASLAN B, KAZANCIOGLU S, BUT A, ASLANER H, AKINCI E, YETKİN MA, KANYILMAZ D, EREN S, BODUR H. "The 6th EURASIA Congress of Infectious Diseases" bildiri kitapçığındaki "Antimicrobial Susceptibilities and Mortality Risk Factors in Patients with Solid Organ and Hematologic Malignancies Who had Bacterial and Fungal Infections", P-400, Belgrad, Serbia September 24- 27, 2014.

BASTUG A, KAYAASLAN B, BUT A, ASLANER H, SERTCELİK A, AKINCI E, ONGURU P, YETKİN MA, BODUR H. "The 6th EURASIA Congress of Infectious Diseases" bildiri kitapçığındaki "A Case of Crimean Congo Hemorrhagic Fever Complicated with Acute Pancreatitis", P-401, Belgrad, Serbia September 24- 27, 2014.

KAYAASLAN B, BUT A, BASTUG A, SERTCELİK A, ASLANER H, EREN SS, YETKİN MA, AKINCI E, BODUR H. "The 6th EURASIA Congress of Infectious Diseases" bildiri kitapçığındaki "Independent Risk Factors for Mortality in Critically Ill Patients" P-203, Belgrad, Serbia September 24- 27, 2014.

YETKİN MA, KANYILMAZ D, AKSU N, BARAN I, MUMCUOĞLU İ, GÖKÇINAR D, BASTUG A, BODUR H. 25th ECCMID Congress bildiri kitapçığındaki "Risk Factors for Carbapenem Resistant *Klebsiella pneumoniae* Colonization in Elderly Patients" P1042. Copenhagen, Denmark 25- 28 April 2015.

YETKİN MA, KANYILMAZ D, BASTUG A, BUT A, ASLANER H, ÖNGÜRÜ P, ŞAHİN A, AKINCI E, BODUR H. "The 7th EURASIA Congress of Infectious Diseases" bildiri kitapçığındaki "Effect of Antibiotic usage on Antimicrobial Resistance Pattern of *Acinetobacter baumannii*". Poster No:17. Tbilisi, Georgia, 30 September-3 October 2015.

BASTUG A, AKINCI E, AYPAK A, KANYILMAZ D, ASLANER H, BUT A, YETKİN MA, ÖNGÜRÜ P, BODUR H. "The 7th EURASIA Congress of Infectious Diseases" bildiri kitapçığındaki "The Evaluation of Nosocomial Bloodstream infections at a Tertiary care Hospital Between 2011-2015: Epidemiology and Mortality Risk Factors". Poster No:109. Tbilisi, Georgia, 30 September-3 October 2015.

RAMÍREZ-ESTRADA S, LAGUNES L, PEÑA Y, VAHEDIAN A, NSEIR S, ARVANITI K, BASTUG A, VIDAUR L, OZTOPRAK N, BOUADMA L, KOULENTI D, Rello, EU-VAE study investigators group. Funden by ESGCIP (ESCMID) Research grant and CIBERES Looking Inside The Ventilator-Associated Events in European Intensive Care Units. The EU-VAE project.

BASTUG A. Enfeksiyon Hastalıkları Tanısında Sendromik Yaklaşım: Klinik Uygulamada Artı ve Eksileri (SÖZLÜ SUNUM) 7. TÜRKİYE EKMUD ULUSLARARASI KONGRESİ 8-13 MAYIS 2018 Meditter J Infect Microb Antimicrob 2018;7: Supplement 1:1-308.

BASTUG A, KIŞLAK S, ONGURU P, AYPAK A, BODUR H. Maskelenmiş IRIS ile Seyreden Konfirme PML Olgusunda Steroid ve Mirtazapın Tedavi Deneyimi [SS-067] (SÖZLÜ BİLDİRİ) 7.

TÜRKİYE EKMUD ULUSLARARASI KONGRESİ 8-13 MAYIS 2018. Mediterr J Infect Microb Antimicrob 2018;7: Supplement 1:1-308.

BAŞTUĞ A, ÖKSÜZ E, KAZANCIOĞLU S, MALHAN S, BODUR H. Günübirlık Antimikrobiyal Tedavi Ünitelerinin Enfeksiyon Hastalıkları Pratiğindeki Yeri: Maliyet Analizi [SS-068] (SÖZLÜ BİLDİRİ) 7. TÜRKİYE EKMUD ULUSLARARASI KONGRESİ.8-13 MAYIS 2018. Mediterr J Infect Microb Antimicrob 2018;7 Supplement 1:1-308

C. Yazılan ulusal/uluslararası kitaplar veya kitaplarda bölümler :

BASTUG A, H BODUR. Viral Hepatitis: Acute Hepatitis, 2019 -Springer

D. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :

BAŞTUĞ A, ÇEVİK M.A, BAYAZIT N, BODUR H. Deri Şarbonu Klinik Görünüm Flora 2006; 11 (1): 45.

ERBAY A, KANYILMAZ D, BAŞTUĞ A, AKTAŞ D, AVCİ N, BAYAZIT N, ÇEVİK M.A, BODUR H. "Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde Sağlık Çalışanlarının İnfluenza Aşısına Karşı Tutum ve Davranışlarının Değerlendirilmesi". *Flora*;12(3):141-147 (2007)

BASTUG AT, HUNER M.A, AKİNCİ E, ERBAY A, ÇEVİK M.A, BODUR H. "Sekonder adrenal yetmezlikle seyreden kronik mukokütanöz kandidiyazis olgusu". *Flora*;12(4): 215-218 (2007)

BAŞTUĞ A, BODUR H. "Akut hepatit C tanı ve tedavisi: Literatüre bakış". Viral Hepatit Dergisi sayı 2 cilt 12 (2007)

BAŞTUĞ A, AYŞE ERBAY A, GÜLDEREN E, KAYAASLAN B, GÖZEL MG, ÇEVİK MA, BODUR. W135 Suşu ile Gelişen Bir Meningokoksik Menenjit Olgusu. A Case of meningococcal Meningitis Due to W135 Strain. FLORA İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi. Cilt: 13 Sayı: 1 Yıl: 2008

AKINCI E, ÖNGÜRÜ P, TANRICI A, UYAR Y, EREN SS, BODUR H. Sağlık Personeline Kırım – Kongo Kanamalı Ateşi Seroprevalansı. FLORA İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi. Cilt: 14 Sayı: 2 Sayfa: 94-96 Yıl: 2009

BASTUG AT, ERBAY A, BODUR H, AKİNCİ E, ÇEVİK M.A. "Hepatobiliyer askariyazis: olgu sunumu". *Flora* dergisi 13(2): 104 (2008)

GÖZEL G, KANYILMAZ D, ERBAY A, AVCİ N, ÜN A, CEYLAN A, ÇINARBAŞ İ, TANRICI A, BODUR H. "Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Temizlik Personeline Verilen Hastane Temizliği Eğitiminin Değerlendirilmesi". Hastane İnfeksiyonları dergisi " The Evaluation of the Infection Control Training Program Given to Ankara Numune Education and Research Hospital's Housekeeping Staff". Turkish Journal of Hospital Infections. Vol;14, Issue:2 June 2010

AKINCI E, KAYAASLAN BU, BAŞTUĞ AT, EREN SS, ÖNGÜRÜ P, BODUR H. Genotip 1b Kronik Hepatit C Hastalarında Kalıcı Virolojik Yanıtın Değerlendirilmesi. Viral Hepatit Dergisi 2013 Cilt: 2 (19): 80-84

BAŞTUĞ A, AKINCI E, AYPAK A, KANYILMAZ D, ASLANER H, BUT A, YETKİN MA, ÖNGÜRÜ P, BODUR H. The Evaluation of Healthcare Associated Bloodstream Infections at a Tertiary Care Hospital Between 2011 and 2015: Epidemiology and Mortality Risk Factors Kafkas Journal of Medical Sciences 2017, 7(1) : 1-7.

ASLANER H, AKINCI E, BUT A, KANYILMAZ D, BAŞTUĞ A, AYPAK A, YETKİN M.A, ÖNGÜRÜ P, BODUR H. Üçüncü basamak bir hastanede tespit edilen cerrahi alan enfeksiyonlarının değerlendirilmesi. THDBD- 77150,| DOI: 10.5505/TurkHijyen.2018.77150

E. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

GÖZEL M.G, AKINCI E, BAŞTUĞ A, ÖNGÜRÜ P, ÇEVİK M.A, BODUR H. ‘‘Gebe Nörobruselloz olgusu poster sunumu EKMUD kongresi S: 142 P:005, Ankara, 2007

KANYILMAZ D, ERBAY A, BAŞTUĞ A, AVCI N, CEYLAN A, ÜN A, ÇINARBAŞ İ, BAYAZIT N, BODUR H. "Yoğun Bakım Ünitelerinde Gelişen Kateter ilişkili Üriner Enfeksiyonların Değerlendirilmesi". 2.EKMUD Kongresi, S: 220, P: 078, Ankara, 2008

GÖZEL G, KANYILMAZ D, ERBAY A, AVCI N, ÜN A, CEYLAN A, ÇINARBAŞ İ, TANRICI A, BODUR H. "Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Temizlik Personeline Verilen Hastane Temizliği Eğitiminin Değerlendirilmesi". 2.EKMUD Kongresi, S: 232, P: 098, Ankara, 2008

BAYAZIT FN, ÖNGÜRÜ P, KAYAASLAN BÜ, BAŞTUĞ A, AKINCI E, BODUR H. "2. EKMUD Kongresi" kongre kitapçığındaki "Herpes Simpleks Ensefaliti: Dört Olgu Sunumu", 236 pp., Ankara, Türkiye, 2008.

KAYAASLAN BU, AKINCI E, BAŞTUĞ AT, EREN SS, BODUR H. "3. EKMUD Platformu" kapsamındaki bildiri kitapçığındaki "Kliniğimizde 2005-2008 Yılları arasında Takip Edilen 161 Bruselloz olgusunun Analizi", S47, 305 pp., İstanbul, Türkiye. 2011.

KANYILMAZ D, KAYAASLAN B, YETKİN MA, BAŞTUĞ A, KESİM S, YILDIZ S, ÇINARBAŞ İ, AYAZ E, ÜN A, YABAN B, ULUTAŞ G, AVCI N, ASLANER H, BUT A, ÖNGÜRÜ P, AKINCI E, BODUR H. " BUHASDER 5. Tepecik Enfeksiyon Günleri Sempozyumu" bildiri kitapçığındaki "Genel Cerrahi Kliniklerinde Opere Edilen Yaşlı Hastalarda Gelişen Cerrahi Alan Enfeksiyonlarının Değerlendirilmesi", P24, 457 pp., İzmir, Türkiye, 2013

YETKİN MA, KANYILMAZ D, KAYAASLAN B, BAŞTUĞ A, KESİM S, YILDIZ S, ASLANER H, BUT A, ÖNGÜRÜ P, ÜN A, YABAN B, ULUTAŞ G, AKINCI E, BODUR H. " BUHASDER 5. Tepecik Enfeksiyon Günleri Sempozyumu" bildiri kitapçığındaki "Bir Yoğun Bakım Ünitesinde Yatan Hastalarda Mortalite Risk Faktörleri", P65, 457 pp., İzmir, Türkiye, 2013.

KAYAASLAN B, BAŞTUĞ A, BUT A, ASLANER H, EREN SS, AYDIN E, AKINCI E, YETKİN MA, BODUR H. "XII.Ulusal Viral Hepatit Kongresi" kongre kitabındaki "Kronik Hepatit B Tanısı ile Tedavi Edilen Hastaların Değerlendirilmesi", PS07-41, 192 pp., Antalya, Türkiye, 2014.

KAYAASLAN B, BAŞTUĞ A, BUT A, ASLANER H, EREN SS, AYDIN E, AKINCI E, YETKİN MA, BODUR H. "XII.Ulusal Viral Hepatit Kongresi" kongre kitabındaki "Kronik Hepatit C Tedavisinde Kalıcı Virolojik Yanıt Oranı",PS08-29, 231 pp., Antalya, Türkiye, 2014.

KANYILMAZ D, YETKİN MA, ASLANER H, BUT A, BAŞTUĞ A, KAYAASLAN B, ULUTAŞ G, SALMAN E, MUMCUOĞLU İ, AKSU N, AKINCI E, BODUR H. " Hastane İnfeksiyonları Kongresi " kongre kitabındaki "Hastanemizde 2010-2013 Yılları Arasında Stenotrophomonas maltophilia'ya Bağlı Gelisen Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlarının Epidemiyolojik Özellikleri", P168, 384 pp. Antalya, Türkiye, 2014.

YETKİN MA, KANYILMAZ D, BAŞTUĞ A, KAYAASLAN B, ASLANER H, BUT A, ÜN A, ÇINARBAŞ İ, YABAN B, MUMCUOĞLU İ, AKSU N, AKINCI E, BODUR H. "Hastane İnfeksiyonları Kongresi" kongre kitabındaki "Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde 2012-2013 Yıllarında Saptanan Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonların Değerlendirilmesi",P169, 385 pp. Antalya, Türkiye, 2014.

ASLANER H, YETKİN MA, PEPE FÜ, BUT A, BAŞTUĞ A, KAYAASLAN B, AKINCI E, BODUR H. Aktif Tüberküloza Yönelik Tedavi Başlanan Yeni Tanı HIV Pozitif Bir Hastada Tedavi Deneyimi. P29, 4. İleri Düzeyde HIV/AIDS Kursu, İzmir, Türkiye, 2014.

YETKİN MA, ASLANER H, SERTÇELİK A, PEPE F, BAŞTUĞ A, KAYAASLAN B, BUT A, AKINCI E, BODUR H. İleri Evre HIV Enfeksiyonu Olan Bir Hastada Sitomegalovirusa Bağlı Ciddi Kolit Olgusu. P14, 4. İleri Düzeyde HIV/AIDS Kursu, İzmir, Türkiye, 2014.

KAYAASLAN B, BUT A, BAŞTUĞ A, SERTÇELİK A, ASLANER H, EREN SS, YETKİN MA, AKINCI E, BODUR H. "5.Ekmud Kongresi" kongre kitabındaki "Ankara Numune Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Medikal-Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesinde Görülen Enfeksiyonların Değerlendirilmesi", PS039, 247-248 pp. Antalya, Türkiye, 2014.

YETKİN MA, KANYILMAZ D, BAŞTUĞ A, KAYAASLAN B, BUT A, ASLANER H, AKINCI E, BODUR H. "5.Ekmud Kongresi" kongre kitabındaki " Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Medikal/Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesinde invaziv Alet ilişkili Enfeksiyon Hızları ", PS043, 250-251 pp. Antalya, Türkiye, 2014.

YETKİN MA, KANYILMAZ D, BAŞTUĞ A, KAYAASLAN B, BUT A, ASLANER H, AKINCI E, BELEN D, BODUR H. "5.Ekmud Kongresi" kongre kitabındaki " Beyin Cerrahisi Yoğun Bakım Ünitesinde İnvaziv Alet İlişkili Enfeksiyon Hızlarının İncelenmesi ", PS081, 281-282 pp., Antalya, Türkiye, 2014.

KANYILMAZ D, YETKİN MA, ÇINARBAŞI İ, ÜN A, ULUTAŞ G, YABAN B, AYAZ E, BAŞTUĞ A, BODUR H. "5.Ekmud Kongresi" kongre kitabındaki "Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesinde 2012-2013 Yıllarında Saptanan Prosedür Spesifik Cerrahi Alan Enfeksiyonu Oranlarının Değerlendirilmesi" 5. Ekmud Kongresi, 21-25 Mayıs 2014, Antalya, Türkiye [PS079].

KANYILMAZ D, YETKİN MA, ÇINARBAŞI İ, ÜN A, ULUTAŞ G, YABAN B, AYAZ E, BAŞTUĞ A, BODUR H. 5.Ekmud Kongresi kongre kitabındaki Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Sağlık Çalışanlarının 2012-2013 Yıllarında Kan Yoluyla Bulaşan Hastalıklarla Temasının Değerlendirilmesi 5. Ekmud Kongresi, 21-25 Mayıs 2014, Antalya, Türkiye [PS175].

KANYILMAZ D, YETKİN MA, PEPE F, BAŞTUĞ A, BUT A, ASLANER H , AKINCI E, BODUR H. Hastane Enfeksiyon Etkeni Gram negatif Mikroorganizmalarda Karbapenem Direncindeki Değişim. 5. Ekmud Bilimsel Platformu, 01-04 Nisan 2015. İzmir (SB:29) (Sözlü bildiri)

YETKİN MA, ÖZDEMİR B, ASLANER H, BAŞTUĞ A, ÖNGÜRÜ P, BUT A, EREN SS, AKINCI E, KANYILMAZ D, BODUR H “ Kliniğimizde Takip Ettiğimiz HIV/AIDS Olgularının Klinik ve Epidemiyolojik Özelliklerinin İncelenmesi” 5. Ekmud Bilimsel Platformu, 01-04 Nisan 2015. İzmir (PB:119)

KANYILMAZ D, YETKİN MA, PEPE F, BAŞTUĞ A, BUT A, ASLANER H, AKINCI E, BODUR H “ Cerrahi Alan Enfeksiyon Etkenlerinin Son 5 yıldaki Değişimi” 5. Ekmud Bilimsel Platformu, 01-04 Nisan 2015. İzmir (PB:280)

KANYILMAZ D, YETKİN MA, PEPE F, BAŞTUĞ A, BUT A, ASLANER H, AKINCI E, BODUR H. Hastane Enfeksiyonu Etkeni Olarak Kabul Edilen Enterokok Türlerinin 6 Yıllık Değerlendirilmesi: 2009-2014. 5. Ekmud Bilimsel Platformu, 01-04 Nisan 2015.İzmir (PB-281)

YILMAZ PÖ, MUTLU MN, SERTÇELİK A, BAŞTUĞ A, DOĞU C, KIŞLAK S. Ağır Bir Listeria Rombensefaliti Olgusunda Linezolid ve Deksa metazon Tedavi Deneyimi, 5. Ekmud Bilimsel Platformu, 01-04 NİSAN 2015 .İzmir (PB-367)

BAŞTUĞ A, KİŞLAK S, MUTLU NM, AKÇABOY ZN, KÖKSAL A, SERTÇELİK A, ÜNLÜ RE, AKINCI E. İnsan Isırığı Sonrasında Gelişen ve Ekstremitte Ampütasyonuna neden olan Streptokokal Nekrotizan Fasiit. 5. Ekmud Bilimsel Platformu, 01-04 NİSAN 2015 .İzmir (PB-022)

DEMİR Z.C, BODUR H, BAŞTUĞ A, OZKUL A. ‘‘XIV. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi ‘‘ kongre kitapçığındaki ‘‘ Akut Kırım Kongo Kanamalı Ateşi hastalarında mikroRNA ifadelerinin analizi. ‘‘,27-30 Ekim 2015, Antalya (PB: 0465, sözlü bildiri)

ÖZEN Y, BAŞTUĞ A, ÖNGÜRÜ P, AKINCI E, YETKİN M.A, PEPE F.Ü, BODUR H. Geriatrik Enfeksiyonların Altı Yıllık Değerlendirmesi *Mediterr J Infect Microb Antimicrob* 2017;6: Supplement 1:1-187

ÖZBAY BO, ÖZDEN C, BAŞTUĞ A, ŞENEL S, AKINCI E, BODUR H. Amfizematöz Piyelonefrit: Olgu Sunumu *Mediterr J Infect Microb Antimicrob* 2017;6: Supplement 1:1-187

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Projelerde Yaptığı Görevler:

Tübitak Araştırma ve geliştirme 1003 Projesi, Araştırmacı: Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Hastalığına Karşı Profilaktik ve İmmunoterapötik Biyolojik Madde Üretimi Proje numarası: 115S074 (2015-2018)

EU- VAE Projesi (Uluslar arası), Araştırmacı; Evaluation of the incidence, risk factors and outcome of patients with ventilator- associated events

RESEARCH PROPOSAL (Submitted by J. Rello on behalf of the ESGCIP.) (2014)

Prospektif, gözlemsel çok merkezli çalışma, katılan ülkeler; İspanya, Fransa, Almanya, İtalya, Portekiz, Türkiye, Yunanistan ve Slovenya)

Extend faz 3b/4 Uluslararası Randomize Kontrollü Çalışma (Yardımcı Araştırmacı);

Extended-pulsed fidaxomicin versus vancomycin for Clostridium difficile infection in patients 60 years and older (EXTEND): a randomised, controlled, open-label, phase 3b/4 trial

Pfizer C3601002 Parexel 234454 Faz 3 Prospektif Randomize Açık Etiketli Uluslar arası çalışma (Sorumlu Araştırmacı)

Konferans ve Seminerler

1. Ankara Fen Toplantıları-1, Olgular Eşliğinde Febril Nötropenik hastaya yaklaşım, Etkenler ve Tanısal Testler, 23.12.2013

2. 2014-2015 Ekmud Ankara Toplantıları, Ülkemizde Halk Sağlığı İçin Tehdit Oluşturan Viral Enfeksiyonlar, MERS- CoV Enfeksiyonu,14. 11.2014

3. Ekmud Ankara Toplantıları, 16.4.2014 Kemik İliği Transplantasyonunda Profilaksi

4. "The 7th EURASIA Congress of Infectious Diseases" Crimean Congo Hemorrhagic Fever: Epidemiologic Overview" Sözlü sunum. Tbilisi, Georgia, 30 September-3 October 2015.

5. Ankara HIV- AIDS Günleri, Vaka Sunumu. 26 Mayıs 2015

6. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği 2013- 2014 Yılı Eğitimi, Antibiyotik Kullanım İlkeleri 04.12.2013
7. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2015 yılı Eğitim Planı çerçevesinde doktor, hemşire ve diğer sağlık personeline yönelik Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonların Önlenmesi. 14.9.2015
8. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hastane Enfeksiyon Kontrolü Hemşire Temel Eğitimi kapsamında İzolasyon Yöntemleri. 15.10.2014
9. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hastane Enfeksiyonları ve Önlenmesi konulu asistan doktor eğitimi kapsamında Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Antibiyotik profilaksisi 22.10.2014
10. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hastane Enfeksiyon Kontrolü Hemşire Temel Eğitimi kapsamında İmmünkompromize Hastalarda gelişen Enfeksiyonlar ve Önlenmesi 10.12.2014
11. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hastane Enfeksiyon Kontrolü Hemşire Temel Eğitimi kapsamında Nosokomiyal Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonları Eğitimi 13.11.2013
12. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2013 yılı 2. Dönem Acil Bakım Hemşireliği Kursu Eğitimi kapsamında ‘ ‘ Enfeksiyon, immünoloji acilleri , Şarbon, Brusella
13. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği 2015- 2016 Yılı Eğitimi, Viral Enfeksiyonların Tanısında Kullanılan Nükleik Asit Temelli Yöntemler 27.1.2016
14. Kronik Osteomyelit Ekmud Ankara Günleri Ocak 2016
15. Enfeksiyon Hastalıkları Tanısında Sendromik Yaklaşım: Avantaj ve Dezavantajları (Solunum Yolu Hastalıklarında) Ekmud Ankara Günleri Aralık 2017
16. Viral Hemorajik Ateşler ve Seyahat Enfeksiyonları Kursu; Kırım Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA)’nde Epidemiyoloji, Patogenez, Tanı ve Klinik Özellikler Oturumu, Dünya’da Son Durum 6. TÜRKİYE EKMUD KONGRESİ 11-15 MAYIS 2016
17. Enfeksiyon Hastalıkları Tanısında Sendromik Yaklaşım: Klinik Uygulamada Artı ve Eksileri 7. TÜRKİYE EKMUD ULUSLARARASI KONGRESİ 8-13 MAYIS 2018
18. Biyolojik Tedavi Alan Hastalarda Enfeksiyon Yönetimi Genç Trasd Okulu 13 Ekim 2019 Ankara
19. Başlangıç Antiretroviral Tedavi Rejimi Bursa HIV Akademisi 26-27 Ekim 2019

VIII- Diğer Bilgiler

Sertifika ve Kurslar:

1. Hastane Enfeksiyonları Kontrolü Kursu. Ankara. 2005.
2. EKMUD Temel Mesleki Gelişim Kursu. Ankara. 2006.
3. EKMUD İleri Mesleki Gelişim Kursu: Makale Yazımı. Ankara. 2006.
4. Kronik Viral Hepatit Tanı ve Tedavi Kursu. Ankara. 2006.
5. EKMUD 2. Epidemiyoloji ve Salgın Analizi Kursu (ESAK). İzmir. 2008.
6. Enfeksiyon Hastalıkları Epidemiyolojisi: Salgın Analizi Kursu, Ankara, 2007.
7. İleri Mesleki Gelişim Kursu: Makale Yazımı, Ankara, 2007.
8. Viral Hepatit Tanı ve Tedavi Kursu, Antalya, 2007.

9. Hastane İnfeksiyonları Eğitim Programı, Eskişehir, 2007.
10. 5. Febril Nötropeni Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu, Ankara 2009.
11. Hastane Enfeksiyonları Enfeksiyon Kontrol Hekimi Sertifikası. Ankara. 2013
12. Hastane İnfeksiyonları Eğitim Programı, Malatya,2013.
13. VHSD ‘Biyostatistik Kursu’ ve ‘İleri İstatistik Kursu ’. Ankara. 2013.
14. Bilimsel Makale Yazma ve Değerlendirme Kursu. Ankara.2013
15. AkademiKA İleri Düzey İyi Klinik Uygulamalar (IKU) Eğitimi. Budapeşte. 2013.

