

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

2016 YILI SÜRESİNCE ZONGULDAK İLİ ATMOSFERİNDEKİ Alt a 1 ALERJEN

MİKTARININ ELISA YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NERGİS TEKİN

OCAK 2020

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

2016 YILI SÜRESİNCE ZONGULDAK İLİ ATMOSFERİNDEKİ Alt a 1 ALERJEN

MİKTARININ ELISA YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nergis TEKİN

DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Şenol ALAN

ZONGULDAK

Ocak 2020

KABUL:

Nergis TEKİN tarafından hazırlanan “2016 Yılı Süresince Zonguldak İli Atmosferindeki Alt a 1 Alerjen Miktarının ELISA Yöntemi İle Belirlenmesi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle/oyçokluğuyla kabul edilmiştir.
31/01/2020

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Şenol ALAN

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü



Üye: Prof. Dr. Talip ÇETER

Kastamonu Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü



Üye: Doç. Dr. Ayşe KAPLAN

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım. / / 20....



Prof. Dr. Ahmet ÖZARSLAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”


Nergis TEKİN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

2016 YILI SÜRESİNCE ZONGULDAK İLİ ATMOSFERİNDEKİ Alt a 1 ALERJEN MİKTARININ ELISA YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ

Nergis TEKİN

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Şenol ALAN

Ocak 2020, 43 sayfa

Son yıllarda atmosferik alerjen izleme çalışmaları tüm dünya da hız kazanmaya başlamıştır. Bu çalışmalar atmosferden alerjiye neden olan alerjenleri doğrudan belirleme avantajına sahiptir. Bu çalışmalar sonucunda polen başına düşen alerjen miktarının farklılık gösterdiği bulunmuştur.

Tez çalışmasında Zonguldak ili atmosferinde yer alan *Alternaria* küf sporu ile bu küf tarafından üretilen Alt a 1 alerjen miktarı 2016 yılı boyunca izlenmiştir. Sporların toplanması için Hirst Tipi tuzak kullanılmış olup, alerjenlerin örneklenmesinde Yüksek Hacimli Kademeli Hava Örnekleyicisi (YHKHÖ) kullanılmıştır. Kullanılan cihaz bir tanesi partikül büyüklüğü 10 µm'den büyük olan partikülleri (PM>10) toplarken, alttaki katman büyüklüğü 10 µm ile 2,5 µm olanları (10>PM>2.5) toplamaktadır. Hirst tuzağı haftalık değiştirilirken, YHKHÖ günlük olarak değiştirilmiştir. Sporların sayımı için mikroskopik analiz yapılırken, Alt a 1 miktarının ölçümü için ELISA yöntemi kullanılmıştır.

ÖZET (devam ediyor)

Tez kapsamında toplam 126 gün örnekleme ve analiz çalışması gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda spor integrali 13169,52 spor*m³/gün olarak belirlenmiştir. En yoğun spor konsantrasyonu Temmuz ayında görülürken, bunu sırasıyla Ağustos ve Haziran ayı izlemiştir.

Her iki kademedен toplam ölçülen Alt a 1 miktarı 101,3 pg*m³/gün dür. Bunun %92,3'ü PM>10 filtrelerinde belirlenirken, geri kalan %7,7'lik kısmı 10>PM>2.5 filtrelerinde belirlenmiştir. Yine en yoğun alerjen Temmuz ayında görülürken, en yoğun alerjenin izlendiği gün ise Haziran ayındadır.

Literatüre bakıldığında Alt a 1 ile ilgili sınırlı çalışma yer almaktadır, Tez sonucunda Ankara ve Polonya'nın Poznan kentinden farklı olarak Alt a 1 alerjeninin büyük bir kısmının, polen çalışmalarında olduğu gibi PM>10 filtrelerinde bulunmuştur. Bu durum, Zonguldak ilinin *Alternaria* gelişimine olanak sağlayacak şekilde yaygın yaprak dökен ormanlarla kaplı olması ile bağlantılı olabilir. Elde ettiğimiz alerjenlerin büyük bir kısmının sporelerden ziyade hiflerden kaynaklanabileceği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: *Alternaria*, ELISA, Alt a 1, İzleme, Zonguldak

Bilim Kodu: 401.01.00.

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

DETERMINATION of Alt a 1 ALLERGEN CONCENTRATION by ELISA TECHNIQUE DURING 2016.

Nergis TEKİN

**Zonguldak Bülent Ecevit University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology**

**Thesis Advisor: Assist. Prof. Dr. Şenol ALAN
January 2020, 43 pages**

In recent years, atmospheric allergen monitoring studies have started to gain momentum all over the world. These studies have the advantage of directly identifying allergens that cause allergies from the atmosphere. As a result of these studies, it was found that the amount of allergen per pollen varies.

In the thesis, *Alternaria* mold spore in the atmosphere of Zonguldak province and the amount of Alt a 1 allergen produced by this mold were monitored throughout 2016. Hirst Type trap was used for the collection of spores and High Volume Stage Air Sampler was used for sampling of allergens. The device used collects particles (PM_{10}), one of which has a particle size greater than 10 μm , while the lower layer collects between 10 μm and 2.5 μm ($PM_{10-2.5}$). The Hirst trap was changed weekly, while the High Volume Stage Air Sampler was changed to daily. Microscopic analysis was performed for counting spores and ELISA method was used for the measurement of Alt a 1.

ABSTRACT (continued)

A total of 126 days of sampling and analysis were conducted within the scope of the thesis. At the end of the study, spore integral was determined as 13169,52 spores * m³ / day. The highest concentration of sports was observed in July, followed by August and June, respectively. The total amount of Alt a 1 measured from both levels is 101.3 pg / m³. 92.3% of this is determined in PM₁₀ filters, while the remaining 7.7% is determined in PM_{2.5} filters. Again, the most intense allergen was observed in July and the most intense allergen was observed in June.

In the literature, there are limited studies about Alt a 1. Unlike Ankara and Poznan, Poland, the majority of Alt a 1 allergens were found in PM₁₀ filters as in the same pollen studies. This may be related to the fact that the province of Zonguldak is covered with extensive deciduous forests that allow for the development of *Alternaria*. We believe that most of the allergens that we obtain may be caused by hyphae rather than spores.

Keywords: *Alternaria*, ELISA, Alt a 1, Monitoring, Zonguldak

Science Code: 401.01.00.

TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım boyunca bilgi, öneri, yardım ve becerilerini esirgemeyen, tez çalıőmama yön veren danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Şenol ALAN'a, ayrıca desteğini benden hiç esirgemeyen Lisans ve Yüksek lisan arkadaşım Uzm. Biyolog Tuğba SARIŞAHİN ile sürekli yanımda olan sevgili eőim İőhak ÖZEL TEKİN'e çok teşekkür ederim.





İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
BÖLÜM 1 GİRİŞ	1
1.1 LİTERATÜR ÖZETİ	6
BÖLÜM 2 MATERYAL VE METOT	9
2.1 ARAŞTIRMA BÖLGESİNİN KONUMU	9
2.2 ARAŞTIRMA BÖLGESİNİN İKLİMİ	9
2.3 ATMOSFERİK ÖRNEKLERİN TOPLANMASI	9
2.3.1 Atmosferik <i>Alternaria</i> Sporlarının Toplanması	10
2.3.2 Atmosferik Spor Örneklerinin Preparat Haline Getirilmesi	10
2.3.3 Atmosferik <i>Alternaria</i> Sporlarının Sayımı	11
2.4 ATMOSFERİK ALT a 1 ÖRNEKLEMESİ.....	12
2.5 ATMOSFERİK ALT a 1 MİKTARININ ELISA YÖNTEMİ İLE ANALİZİ.....	13
2.6 ALT a 1 ALERJEN MİKTAR ÖLÇÜMÜ	15
2.7 İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	17

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

Sayfa

BÖLÜM 3 BULGULAR.....	19
3.1 <i>ALTERNARIA</i> SPOR KONSANTRASYONU.....	19
3.1.1 Mayıs Ayı Spor Konsantrasyonu	20
3.1.2 Haziran Ayı Spor Konsantrasyonu	21
3.1.3 Temmuz Ayı Spor Konsantrasyonu.....	21
3.1.4 Ağustos Ayı Spor Konsantrasyonu	21
3.1.5 Eylül Ayı Spor Konsantrasyonu	22
3.2 ALT a 1 ALERJEN KONSANTRASYONU.....	22
3.2.1 Mayıs Ayı Alerjen Konsantrasyonu.....	23
3.2.2 Haziran Ayı Alerjen Konsantrasyonu	23
3.2.3 Temmuz Ayı Alerjen Konsantrasyonu	24
3.2.4 Ağustos Ayı Alerjen Konsantrasyonu	24
3.2.5 Eylül Ayı Alerjen Konsantrasyonu.....	25
3.3 ATMOSFERİK <i>ALTERNARIA</i> SPOR VE ALT a 1 ALERJEN KONSANTRASYONUNUN BİRBİRLERİ VE METEOROLOJİK FAKTÖRLERLE BAĞLANTISI	27
3.3.1 Atmosferik Alternaria Spor Konsantrasyonu ile Alt a 1 Alerjen Konsantrasyonu Arasında İlişki.....	28
3.3.2 Alternaria Spor ve Alt a 1 Alerjen Konsantrasyonlarının Meteorolojik Faktörlerle Bağlantısı	29
BÖLÜM 4 TARTIŞMA	31
KAYNAKLAR.....	37
ÖZGEÇMİŞ	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 Değişik ascus morfolojileri ve dağılım mekanizmaları	3
Şekil 1.2 a-c: <i>Alternaria alternata</i> da konidium, b-d: Konidiforlar	4
Şekil 2.1 Burkard Cihazının genel görüntüsü, b. Burkard cihazının içerisinde yer alan ve şeffaf bandın sarıldığı döner disk.	10
Şekil 2.2 Burkard preparatlarının hazırlanması.....	11
Şekil 2.3 Sporların sayımı için kullanılan tam alan sayım metodunun şematize gösterimi.	12
Şekil 2.4 BGI 900 kademeli yüksek hacimli hava örnekleyicisi.....	12
Şekil 2.5 PM>10, 10>PM>2.5 filtre parçalarının vida yerlerinden kesimi.....	13
Şekil 2.6 PM>10 (a)ve 10>PM>2.5 (b) filtrelerinin özütleme aşaması.	14
Şekil 2.7 PM>10 ve 10>PM>2.5 Alerjen örneklerinin liyofilize edilmesi.	14
Şekil 2.8 Atmosferik örneklerin ELISA plakasındaki örnek yerleşim planı. İlk iki sıra standartlardan oluşurken tekrarlı örnekler alt alta konumlandırılmıştır.	16
Şekil 3.1 <i>Alternaria</i> spor konsantrasyonun aylara göre dağılımı.	20
Şekil 3.2 Mayıs ayında gözlenen <i>Alternaria</i> spor konsantrasyonu.	20
Şekil 3.3 Haziran ayında gözlenen <i>Alternaria</i> spor konsantrasyonu.	21
Şekil 3.4 Temmuz ayında gözlenen <i>Alternaria</i> spor konsantrasyonu.	21
Şekil 3.5 Ağustos ayında gözlenen <i>Alternaria</i> spor konsantrasyonu.	22
Şekil 3.6 Eylül ayında gözlenen <i>Alternaria</i> spor konsantrasyonu.	22
Şekil 3.7 Tez kapsamında ölçülen toplam Alt a 1 alerjen konsantrasyonunun filtre kademelerine göre dağılımı.	23
Şekil 3.8 Mayıs ayında gözlenen Alt a 1 alerjen konsantrasyonunun günlük değişimi.	23
Şekil 3.9 Haziran ayında gözlenen Alt a 1 alerjen konsantrasyonunun günlük değişimi.	24
Şekil 3.10 Temmuz ayında gözlenen Alt a 1 alerjen konsantrasyonunun günlük değişimi.	24
Şekil 3.11 Ağustos ayında gözlenen Alt a 1 alerjen konsantrasyonunun günlük değişimi.	25
Şekil 3.12 Eylül ayında gözlenen Alt a 1 alerjen konsantrasyonunun günlük değişimi.	25
Şekil 3.13 Tez kapsamında izlenen <i>Alternaria</i> spor ve Alt a 1 alerjen konsantrasyonunun günlük değişimi.	26



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 Örneklerin liyofilize edilmesinde kullanılan program.	15
Çizelge 3.1 <i>Alternaria</i> spor konsantrasyonunun aylık dağılımı.	19
Çizelge 3.2 Aylık gözlenen Alt a 1 alerjen miktarları ve yüzdeleri.	26
Çizelge 3.3 En yoğun alerjenlerin gözlendiği günler.	27
Çizelge 3.4 Zonguldak iline ait mevsim normalleri.	27
Çizelge 3.5 Zonguldak Meteoroloji istasyonunda 2016 yılında kaydedilen çeşitli meteorolojik parametreler.	28
Çizelge 3.6 Zonguldak ili atmosferinde 2016 yılında kaydedilen <i>Alternaria</i> spor ve farklı kademelerde ölçülen Alt a 1 konsantrasyonları arasındaki ilişki.	28
Çizelge 3.7 <i>Alternaria</i> spor, PM ₁₀ , PM _{2.5} filtrelerinde ölçülen alerjenler ile meteorolojik faktörler arasındaki değişim.	29
Çizelge 4.1 Ankara ve Zonguldak illerinde yapılan benzer çalışmaların karşılaştırması.	31



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

pg	: Pikogram (10^{-12} gram)
ng	: Nanogram (10^{-9} gram)
m ³	: Metreküp
°C	: Santigrad derece
µm	: Mikrometre (10^{-6} metre)
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
g	: Yerçekimi kuvveti
kDa	: Kilodalton
m	: Metre
km ²	: Kilometrekare
ha	: Hektar
cm	: Santimetre
km	: Kilometre
N	: Kuzey
E	: Doğu
mm	: Milimetre
U	: Unite

KISALTMALAR

BEÜ	: Bülent Ecevit Üniversitesi
ELISA	: Enzime bağlı immünosorban yöntem
IgE	: İmmünglobulin E
İBF	: İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi
PM	: Partikül büyüklüğü



BÖLÜM 1

GİRİŞ

Mantar sporları mikroskobik yapılar olup, atmosferde rüzgâr yardımı ile uzun mesafelere dağılabilmektedirler. Sporların taşınmasında birçok etken rol oynamaktadır. Mantar sporları neredeyse tüm yıl boyunca atmosferde bulunsalar da bazı dönemlerde artış gösterirler. Sporların üremeleri için yüksek miktarda nem ihtiyaçları vardır [1]. Mantarlar milyarlarca spor üretilip atmosfere yayabilmektedirler [2]. Mantar sporları solunum yolu ile insan vücuduna girerek duyarlı bireylerde alerjik reaksiyonlara sebep olabilmektedir. Kriptogam bitki sporlarına göre mantar sporları daha alerjenik etkiye sahiptirler [3]. Mantarların birçok cinsi bulunmakla birlikte, iç ortam havasında bulunanlar arasında en çok alerjenik etkiye sahip olanlar; *Penicillium* Link, *Aspergillus* Micheli ex Link, *Candida* C.Orian Truss, *Curvularia* Boedijn, *Drechslera* Andrassy ut., *Fusarium* Link ex Gray ve *Nigrospora* Zimmerman, dış ortamda ise özellikle *Alternaria* Nees ex Wallroth başta olmak üzere, *Cladosporium* Link, *Botrytis* Micheli ex Persoon, *Drechslera* Andrassy ut., *Coprinus* (Pers.) S.F.Gray, *Curvularia* Boedijn, *Chaetomium* Kunze, *Fusarium* Link ex Gray, *Leptosphaeria* Cesati and de Notaris, *Pleospora* Rabenh. ex Ces. & De Not., *Stemphylium* Wallrothve *Torula* Pers., duyarlı bireylerde astım gibi rahatsızlıklara sebep olabilmektedir [4,5]. Alerjik hastalıklara en çok sebebiyet veren mantarlar ise dış ortam mantarlarıdır [6,7].

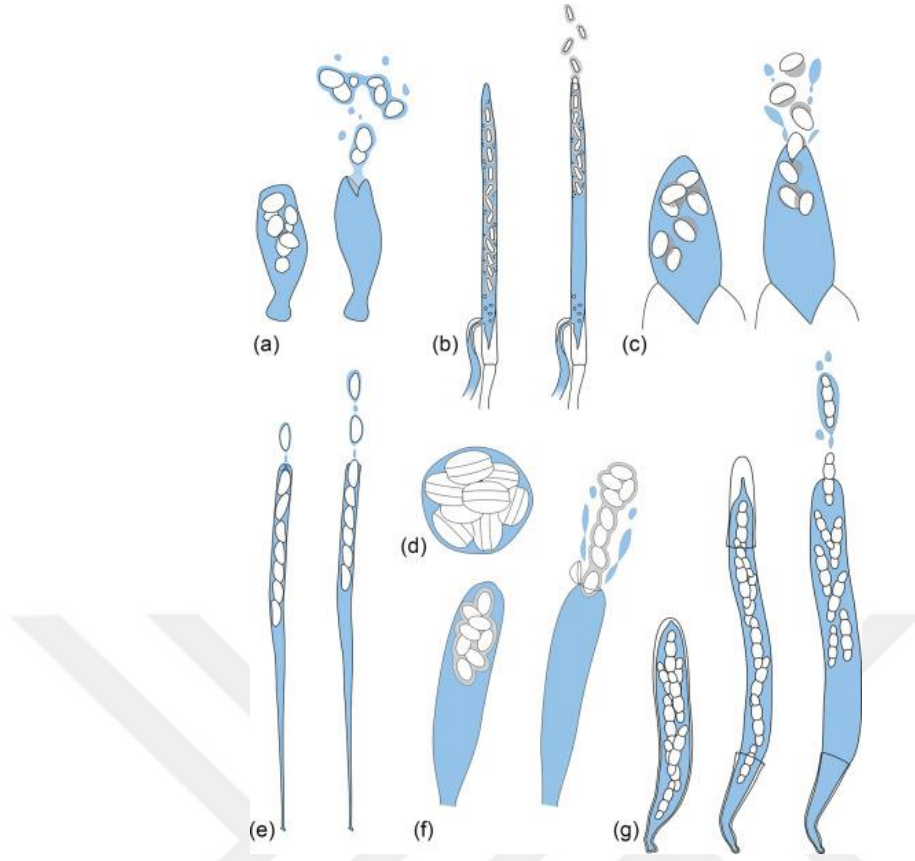
Mantarlar temel olarak eşeysel yapılarına göre sınıflandırılmaktadırlar. Vejetatif hücrelerin morfolojik özellikleri sınıflandırmada çok fazla tercih edilmemekle birlikte, fizyolojik özellikleri tek hücreli mantarlar olan mayaların sınıflandırılmasında kullanılmaktadır. Funguslar genellikle gamet, gametangiumlar, sporokarp ve sporların yapısal özellikleri ile hayat devreleri gibi morfolojik ve sitolojik özelliklerine bakılarak sınıflandırılmaktadırlar. Mantarlar, ilk sınıflandırma sistemlerinde bitkiler aleminin Mycota bölümünde yer alan Myxomycotina ve Eumycotina adı verilen iki alt bölümde incelenmekteydi. Ardından Protista aleminin bir bölümü olarak kabul edilmiş olup, günümüzde ise “Fungi” olarak ayrı bir alem altında sınıflandırılmaktadır [8].

Sporlar çok hücreli ökaryotik yapıda olup, aseksüel ve seksüel yollar ile üremektedirler. Bu sporlar üremek için yüksek miktarda ısı ve neme gereksinim duymaktadırlar. Üreme ve dağılma amacıyla oluşturdukları sporelerden, hava ile taşınan bazı türlere ait olanlar allerjenik özellik taşıdığından, duyarlı bireylerde alerjiye sebep olmaktadır. Bu sporların büyüklüğü 3-10 µm çapında olduğundan dolayı alt solunum yollarına kadar ulaşmaktadır. Yeryüzünde yaklaşık olarak 1 milyon mantar türünün bulunduğu tahmin edilmekle birlikte bunlardan yaklaşık 100 tanesi solunum yolu alerjisine sebep olduğu bilinmektedir [6,9]. Sporlar ile meydana gelen solunum yolu alerjenleri genel populasyon da %3-6 arasında iken, atopik bireylerde %20-30 olduğu bilinmektedir [10]. Alerjik hastalıklara sebep olan en önemli küf mantarlarının *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium* ve *Aspergillus* türleri olduğu bildirilmiştir [11,12].

Alternaria cinsini de içeren ve mantarlar âleminin en büyük sınıflarından biri olan Ascomycota divizyonu, içerisinde birçok patojen bulunduran bir gruptur. Ascomycota divizyonunda temel olarak iki farklı üreme şekli göze çarpmaktadır. Bunlar;

1. Eşeyli Üreme
2. Eşseysiz Üreme

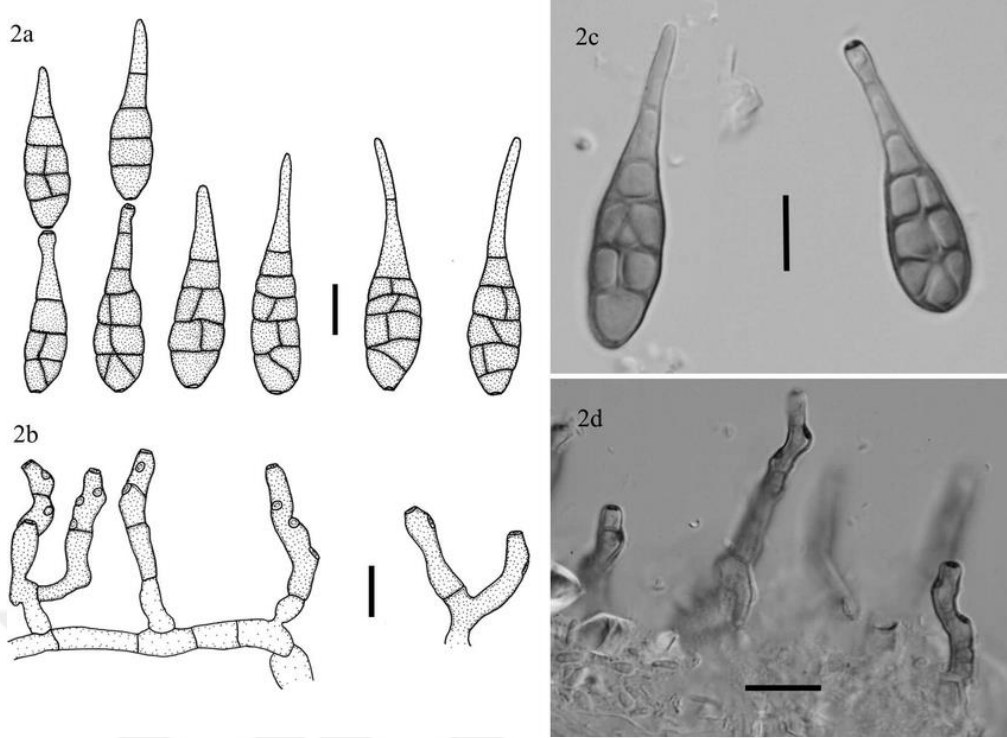
Eşeyli Üreme: Bu grupta eşeyli üreme aynı zamanda gruba adını da veren Ascus isimli keseler yardımıyla gerçekleşmektedir. Ascus içerisinde mayoz bölünme ile oluşan genelde sekiz askospor barındırmaktadır. Bu sayı, farklı gruplarda değişiklik gösterebilmektedir (**Şekil 1.1**).



Şekil 1.1 Değişik ascus morfolojileri ve dağılım mekanizmaları [13].

Eşeysiz Üreme: Ascomycota grubunda görülen diğer bir üreme şekli ise eşeysiz üremedir. Eşeysiz üreme bu grupta temel olarak Konidia ve tomurcuklanma adı verilen yapılar yardımı ile gerçekleşir. Tomurcuklanma daha çok mayalarda görülen bir eşeysiz üreme şekli olup, ana hücrenin kenarından yavru hücrenin yavaş yavaş şekillenmesi ile gerçekleşir.

Konidia ise bir miselyum ucunun şişkinleşmesi ile meydana gelen konidioforların uç kısımlarında mitoz bölünmeler sonucunda oluşan yapılardır. Çok hızlı ve çok sayıda oluşan bu sporlarla mantarların hızla gelişimi mümkün olmaktadır.



Şekil 1.2 a-c: *Alternaria alternata* da konidium, b-d: Konidiforlar [14].

Ascomycota grubunda yer alan *Alternaria* cinsi ise önemli bir bitki patojenidir. Yapılan çalışmalar dünyada yaklaşık olarak 300 *Alternaria* türünün bulunduğunu ortaya koymuştur [15]. *Alternaria* kolonileri genellikle koyu kahve ya da yeşil renkte olup bu rengi içine alan ince bir halkaya sahiptirler. Mikroskobik incelemelerde ise, sporlar koyu renkli ve septalı hifleri ile görülmektedirler. Bir ucu yumru uzun kalem şeklinde olup, genel spor şekli eliptik bir yapıdadır. Bazı türlerinde tepe kısmı konik bir yapıya sahip olup, enine ve boyuna septalara sahiptirler. Ayrıca ince bir duvar yapısına sahiptirler. *Alternaria* cinsi spor boyutları 8-40x 15-200 (500) µm arasında değişmektedir. En yaygın türleri, *Alternaria alternata* (Fr.), *Alternaria brassicae* (Berk.), *Alternaria cucumerina* (E.&E.), *Alternaria dendritica* (S. Cam.)ve *Alternaria solani* türleridir [16].

Alternaria türleri her ne kadar doğal çürüme ve ayrışma olaylarının bir parçası olsalar da, sporlarına toprakta, su ile beraber iç ve dış ortam havasında rastlanmaktadır. *Alternaria* üremek ve hayat formlarını devam ettirebilmek için oldukça nem düzeyi yüksek olan yerleri tercih etmektedir. Bu nedenle meyve ve sebzelerin çürümesine sebep olan bir fungus türüdür. İnsanlarda başta astım olmak üzere birçok enfeksiyona sebep olabilmektedir [17,18].

Bu cins insanlarda alternariosis adı verilen bir hastalığa neden olabilmektedir. Buna karşın *Alternaria* sporlarının insanlarda neden olduğu alerjik rahatsızlık çok daha önemli bir sağlık problemidir. *Alternaria* alerjisi Amerika'daki en önemli fungal alerji olarak kabul edilmektedir [19]. Hatta bu küf sporu ile tetiklenen astım vakaları da bildirilmiştir [3,20]. *Alternaria* duyarlılığının genellikle diğer alerjenler ile beraber gözlemlendiği bildirilmiştir [21]. Tek başına *Alternaria* duyarlılığı ise oldukça düşüktür. Ankara ilinde yapılan bir çalışmada tek başına *Alternaria* alerji görülme sıklığı %0,74 bulurken, diğer alerjenlerle beraber ele alındığında bu oranın %3,7'e çıktığı bulunmuştur [22].

Yapılan çalışmalar duyarlı bireyler arasında özellikle *Alternaria* alerjisine karşı duyarlı astım hastalarının hastalık şiddetini daha ağır geçirdiğini belirtmişlerdir [23]. Bunun ile birlikte atmosferde *Alternaria* sporların en yoğun seviye de görüldüğü dönemlerde astıma bağlı ölümlerin çoğaldığı da belirtilmiştir [24]. Ayrıca hastanede yoğun bakımda yatan hastaların süreci ile atmosferde *Alternaria* sporlarının yer alma süreçleri arasında da pozitif korelasyon olduğu belirtilmiştir [25]. Ülkemizde ise küf sporlarına duyarlılığın %38,4, bunlar içerisinde ise *Alternaria*'nın en güçlü tekli alerjen olduğu bildirilmiştir [26]. ABD yapılan bir çalışmada bireylerin %80 ininde en az bir küf mantarına duyarlı olan pozitif duyarlılık belirlenmiştir. Özellikle 60-69 yaş arasında küf mantarları ile ev tozunun, polenlere oranla daha fazla astım ile bağlantılı olduğu belirlenmiştir [27].

Alternaria türleri her ne kadar dış ortam küfleri olarak sınıflandırılırsalar da, yapılan çalışmalar özellikle "hasta bina sendromu'nun görüldüğü ortamlarda bu küfün *Penicillium* ve *Cladosporium* türleri ile beraber yoğun bir şekilde bulunduğunu ortaya çıkarmıştır [28]. *Alternaria alternata*'dan günümüze kadar 16 farklı alerjen izole edilmiştir. Bu alerjenlerin birçoğu enzimatik karakterdedir. Geri kalan diğer alerjenlerin ise şaperonlar gibi fonksiyonel proteinler olmakla beraber, bu tez çalışmasının da ana konusu olan Alt a 1'inde yer aldığı bir kısım alerjenin işlevi henüz belirlenmemiştir [29]. Ancak β -fiçisi yapısında olduğu bildirilmiştir. Bu proteine benzer homolog proteinlerle yapılan çalışmalardan bir tanesinde; *Alternaria brassicicola*'nın *Arabidopsis thaliana* enfeksiyonu sırasında Alt a 1 alerjenine benzer bir proteini yüksek düzeyde düzenlemeye tabi tuttuğunu ortaya çıkarmıştır [30]. Bu alerjen, bu mantar alerjisi olan duyarlı bireylerin %80'inde antikor yanıtını oluşturmaktadır [31].

Alt a 1 bu küf mantarında yer alan iki ana alerjenden bir tanesi olup, 29 kDa molekül ağırlığına sahip dimerik bir proteindir. *Alternaria* alerjisi olan 42 hasta ile gerçekleştirilen bir çalışmada, IgE dot-blot testi sonuçlarına göre hastaların %98'i bu alerjene karşı duyarlılık gösterdiği, bu nedenle de bu alerjinin *Alternaria* alerjisi için belirteç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir [32]. Ayrıca Alt a 1 alerjisinin farklı büyüklüklerde örnekleme yapan cihazlarla analizi sonucu, partikül büyüklüğü 10 ile 2,5 olan parçacıkları toplayan filtrelerde bu alerjinin daha yoğun olduğu belirlenmiştir [33].

Bununla beraber Alt a 1 alerjisinin *Alternaria* sporlarında çoğunlukla hücre duvarında yerleştiği belirlenmiştir [34]. Buna karşın hiflerde alerjen yerleşiminin oldukça az olduğu da aynı makalede yer almaktadır. Buradan hareketle, sporların kurumasıyla beraber bu alerjenlerin polenlerde olduğu gibi düşük de olsa atmosfere saçılmış olma ihtimalleri de bulunmaktadır.

1.1 LİTERATÜR ÖZETİ

Atmosferdeki polen ve sporların miktar, çeşit ve meteorolojik faktörler ile değişimlerini inceleyen palinolojinin alt dalına aeropalinoloji denilmektedir. Aerobiyolojik çalışmalar, özellikle alerjik hastalıkları olan duyarlı bireylerin alerjik hastalıklarının teşhisinin yanında, alerjik hastalıkların semptomlarının daha hafif atlatılması için idame ilaç dozunun belirlenmesi ya da immünoterapi gibi uygulamaların başlanma tarihinin belirlenmesinde de oldukça büyük katkılar sağlamaktadır.

Aerobiyoloji bilimi içerisinde başta Biyoloji olmak üzere, Parçacık fiziği, Kimya, Meteoroloji ile İstatistik bilimlerini içerisinde kaynaştırmayı başarmış bir bilim dalıdır. Son zamanlarda özellikle modellemeler konusundaki gelişmeler, bu alanın daha da farklı alanlardan bilim insanlarının çalıştığı bir alan haline getirmiştir.

Atmosferde polenler, sporlar ve hif parçaları gibi büyüklükleri 0,5 ile 100 µm arasında değişen partiküller yar almaktadır. Atmosfer de yer alan bu partiküller duyarlı bireylerde hastalık etmeni olmak ile birlikte en sık karşılaşılanlar polen ve küf (mantar) sporlarıdır. Polen ve sporlar bireyler de polinosis adı verilen solunum yolu hastalıklarına sebep olmaktadır [35].

Polenler, küf sporlarına göre daha büyük olduklarından, alerjik rinit gibi daha çok üst solunum yolu hastalıkları ile ilişkilendirilirken, küf sporları aynı zamanda astım gibi alt solunum yolu

hastalıkları ile de ilişkilendirilmektedirler. Hatta NO₂ gibi dizel atıklarının bu etkiyi arttırdığına dair veriler de bulunmaktadır [36]. Atmosferde yer alan sporlar polenlere göre hem daha uzun süre havada kalmakta, hem de miktar olarak daha fazla izlenmektedir.

Bu nedenle, uzun süredir gerek dünyada gerekse ülkemizde atmosferdeki polen ve küf sporlarının belirlenmesine yönelik çalışmalar sürdürülmektedir. Bu çalışmalar, atmosferde alerjiye neden olan kaynağın miktar ve çeşitlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalardır. Bu çalışmalar sonucunda polen ve spor takvimleri adı verilen çizelgeler ile hasta ve tıp hekimlerine yardımcı olunması hedeflenmektedir. Bu çalışmalar kapsamında ülkemizdeki birçok ilin atmosferinde yer alan küf sporları; gravimetrik Durham cihazı, volumetrik Hirst tuzakları ile beraber petri açma yöntemi ile belirlenmiş durumdadır [37].

Atmosferik küf sporları ile ilgili ilk çalışma Ankara'da Özkaragöz tarafından 1969 yılında gerçekleştirilmiş ve havada *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Monilia*, *Mycelia*, *Hormondendrum* gibi cinslerin bulunduğu bildirilmiştir [38]. Ardından yine 1976 yılında Ankara'da bir çalışma daha yapılmış ve yukarıdaki cinslerden farklı olarak *Mucor*, *Oospora*, *Nigrospora*, *Fusarium* cinslerine ait sporlar belirlenmiştir [39]. Bu çalışmalar petri açma çalışmaları olup, bu çalışmaların ardından 90'lı yılların ikinci yarısına kadar sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar Ankara'dan sonra İzmir [40], Samsun [41], İstanbul [42] illerinde gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışmasının gerçekleştirildiği Zonguldak ilinde ise, atmosferik polen ve küflerin izlenmesine 1999 yılında Doç. Dr. Ayşe KAPLAN tarafından başlanmış ve Durham cihazı ile atmosferik *Alternaria* ve *Cladosporium* küf konsantrasyonları belirlenmiştir. Bu çalışmaların ardından Zonguldak ili atmosferi ile ilgili volümetrik cihaz ile ilgili yapılan ilk çalışma 2007-2009 yıllarını kapsayan Doktora tez çalışmasıdır. Bu çalışmada da *Cladosporium* ile beraber *Alternaria* sporları sayılmıştır.

Ardından 2015 yılında başlayan atmosferik aeroalerjen çalışmaları öncelikle polenler ile başlamış ve bu tez çalışması ile küf sporlarına ait alerjenlerle devam ettirilmiştir.

Gravimetrik Durham aleti ile yapılan çalışmalar ülkemizde 90'lı yılların başlarında başlamıştır. İnce ve Pehlivan Antalya ilindeki küf sporlarını belirlemişler ve en yoğun küf sporlarının *Alternaria* cinsine ait sporlar olduğunu bulmuşlardır [43]. Benzer sonuçlar ardından Çankırı

ilinde de belirlenmiş ancak bu ilde yoğun türler arasında *Alternaria* ile beraber, *Cladosporium* olduğu bildirilmiştir [44]. Ardından aralarında Zonguldak [45], Karabük [46] ve Düzce [47] illerinin de aralarında yer aldığı birçok ilde Durham cihazı ile çalışmalar yürütülmüştür. Bu çalışmaların tümünde de *Alternaria* cinsi en yoğun gözlenen sporlar arasında yer almıştır.

Benzer sonuçlar Burkard cihazı adı verilen ve volümetrik esas ile çalışan cihazlarla yapılan çalışmalarda da elde edilmiş durumdadır. Bu cihaz Durham cihazına göre daha iyi toplama etkinliğine sahip olması, daha yüksek analiz çözünürlüğüne (saatlik analiz) sahip olması nedeniyle günümüzde daha çok tercih edilmektedir. Bu tür çalışmalar öncelikle Ankara ilinde başlamış olup en yoğun çalışma bu ilde yürütülmüştür. 1990 ila 2004 yılları arasındaki verileri temel alan birden fazla yayında en yoğun görülen spor tipleri arasında *Alternaria* sporları yer almaktadır [48–50]. Bunların dışında Kastamonu [51], Adana [52] ve Diyarbakır [53] illerinde de bu cihazla çalışmalarda *Alternaria* yoğun bir şekilde belirlenmiştir. Bu çalışmalar genel olarak ele alındığında, *Alternaria* cinsinin özellikle yaz sonu -sonbahar başında atmosferde izlendiği görülmektedir. Yurt dışında yapılan çalışmalarda bunu ortaya koymaktadır [54].

BÖLÜM 2

MATERYAL VE METOT

2.1 ARAŞTIRMA BÖLGESİNİN KONUMU

Zonguldak İli Batı Karadeniz Bölgesi'nde denize kıyısı olan bir ildir. Şehir merkezinin yüksekliği deniz seviyesi ile yaklaşık 150 m'dir [55]. Karadeniz kıyılarından başlayan il toprakları, kuzeyden Karadeniz, kuzeydoğudan Bartın, doğudan Karabük, güneyden Bolu, batıdan ise Düzce illeri ile çevrili olmak ile birlikte Zonguldak ili, Merkez ilçe, Alaplı, Çaycuma, Gökçebey, Devrek ve Karadeniz Ereğli ilçelerinden oluşmaktadır [45, 56].

2.2 ARAŞTIRMA BÖLGESİNİN İKLİMİ

Zonguldak ilinde dağlar kıyıya paralel yer aldığından, kıyı kesimlerden iç kesimlere doğru gidildikçe iklim yapısında önemli değişiklikler görülmektedir. Bu iklim değişiklikleri göz önüne alındığında Zonguldak ilinin kuzeyinden güneyine doğru gidildikçe Oseyanik iklim tipi görülmekle birlikte, farklı vejetasyon tipleri de görülmektedir [57]. Zonguldak yağışlı ve ılık bir iklime sahiptir [58]. Zonguldak ili en çok yağışı kış ve sonbahar aylarında almaktadır. İl de gece-gündüz olarak önemli bir sıcaklık farkı bulunmamakta ancak deniz kenarından iç kesimlere doğru gidildikçe iklim biraz daha sertleşmektedir. İl de yıllık, ortalama sıcaklık 13,4 °C, ortalama yağış 1184,4 kg/cm² iken, ortalama nem %66'dır.

2.3 ATMOSFERİK ÖRNEKLERİN TOPLANMASI

Tez kapsamında atmosferden hem spor hem de alerjen örneklemelerinin toplanması ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Sporların örneklenmesi için Volümetrik Burkard cihazı kullanılırken, Alt a 1 örnekleme için BGI 900 Yüksek Hacimli Kademeli Hava örnekleycisi kullanılmıştır. Bu nedenle her bir toplama ile ilgili işlemler ayrı başlıklar halinde sunulmuştur.

2.3.1 Atmosferik *Alternaria* Sporlarının Toplanması

Atmosferik *Alternaria* sporlarının toplanması için Burkard polen ve spor tuzağı kullanılmıştır. Bu tuzak, elektrikle çalışmakta olup, 24 saatte 14,4 m³ (1 saatte 0,6 m³, dakikada 10 litre) hava emme kapasitesine sahiptir. Çekilen hava, 14 mm eninde ve 2 mm genişliğindeki bir açıklıktan, cihazın içinde yer alan ve üzerinde Melinex adı verilen şeffaf bir bant olan disk üzerine emilmektedir. Bu açıklığın önüne yerleştirilen disk (çark), dönerek bir saatte 2 mm, bir günde 48 mm hareket ederek devrimini bir haftada tamamlamaktadır (Şekil 2.1). Diskin çevresi 336 mm, eni 20 mm'dir. Diskin hareketi, polen toplama tuzağı içindeki saatin kurulması ile sağlanmaktadır. Cihaz üzerinde bulunan 30 cm uzunluğundaki kanat ise, cihazın rüzgâr yönüne doğru dönmesini sağlayarak 2mm genişliğindeki açıklıktan atmosferik havanın daha iyi girmesini sağlamaktadır. Cihaz ile örnekleme yapmak için, tekerlek üzerinde yer alan Melinex bant üzerine Mowiol adı verilen bir yapıştırıcı sürülür. Böylece bir hafta boyunca cihazın emdiği havanın içindeki polen ve sporların, bant üzerine yapışması sağlanır. Bir haftanın sonunda devrini tamamlayan disk cihazdan çıkartılır. Örnekleme 2016 yılının Mart ayı ile Ekim ayı başına kadar olan sürede her iki cihazla gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.1 Burkard Cihazının genel görüntüsü, b. Burkard cihazının içerisinde yer alan ve şeffaf bantın sarıldığı döner disk.

2.3.2 Atmosferik Spor Örneklerinin Preparat Haline Getirilmesi

Atmosferden Burkard tuzağı ile toplanan spor sayımlarının yapılması için Mowiol sürülmüş bant, 48 mm aralıklarla işaretlenmiş plastik bir blok üzerine yerleştirilerek 7 eşit parçaya bölünmüştür. Ardından her bir parça, gliserin-jelatin karışımı sürülmüş temiz bir lam üzerine

hava kabarcığı kalmayacak şekilde dikkatlice konulmuştur. Daha sonra, üzerine safraninli gliserin-jelatin karışımından damlatılarak, 5 cm boyundaki bir lamel ile yine hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilerek kapatılmıştır (Şekil 2.2). Böylece mikroskopik sayım için polenlerin safraninle boyanması sağlanmıştır. Ardından, hazırlanan preparatların lam kenarına yapıştırılan etikete, tarih ve istasyon bilgileri yazılmıştır.



Şekil 2.2 Burkard preparatlarının hazırlanması.

2.3.3 Atmosferik *Alternaria* Sporlarının Sayımı

Burkard cihazı ile atmosferden toplanan atmosferik örnekler preparat haline getirilmiş olup, tezin başlaması ile beraber sayımlara başlanmıştır. Sporların sayımı, İspanya Aerobioloji Ağı (REA) tarafından belirlenen yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Buna göre 48 mm uzunluğa sahip bant alanı, 4 yatay sırada x40 objektif ile sayımları gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.3). Sayım işleminin ardından sayım yapılan objektifin görünür alan çapı hesaplanmış daha sonra dönüştürme faktörü adı verilen bir katsayı ile çarpılarak bir metreküp havada yer alan spor miktarı belirlenmiştir. Görüş alan çapının 0,45 mm olduğu varsayıldığındaki örnek hesaplama şu şekildedir [59].

$$\text{Hava örnekleme hızı: } 10 \text{ L / dak} = 600 \text{ L / saat} = 14400 \text{ L / gün} = 14,4 \text{ m}^3$$

$$\text{Mikroskop görüş alanının ortalama çapı: } 0,45 \text{ mm}$$

$$\text{Bir yatay sıra taramanın alanı} = 48 \text{ mm} \times 0,45 \text{ mm} = 21,6 \text{ mm}^2$$

$$\text{Taranan alan} = 21,6 \times 4 \text{ yatay sıra} = 86,4 \text{ mm}^2$$

$$\text{Toplam yüzey alanı} = 48 \text{ mm uzunluk} \times 14 \text{ mm genişlik} = 672 \text{ mm}^2$$

$$\text{Metreküp havadaki spor miktarı} = (672 \text{ mm}^2 / 86,4 \text{ mm}^2) \times (1 / 14,4) \times N$$

$$N = \text{dört yatay sıra taramadaki spor sayısı.}$$

$$\text{Metreküp spor miktarı} = N \times 0,54$$



Şekil 2.3 Sporların sayımı için kullanılan tam alan sayım metodunun şematize gösterimi.

2.4 ATMOSFERİK ALT a 1 ÖRNEKLEMESİ

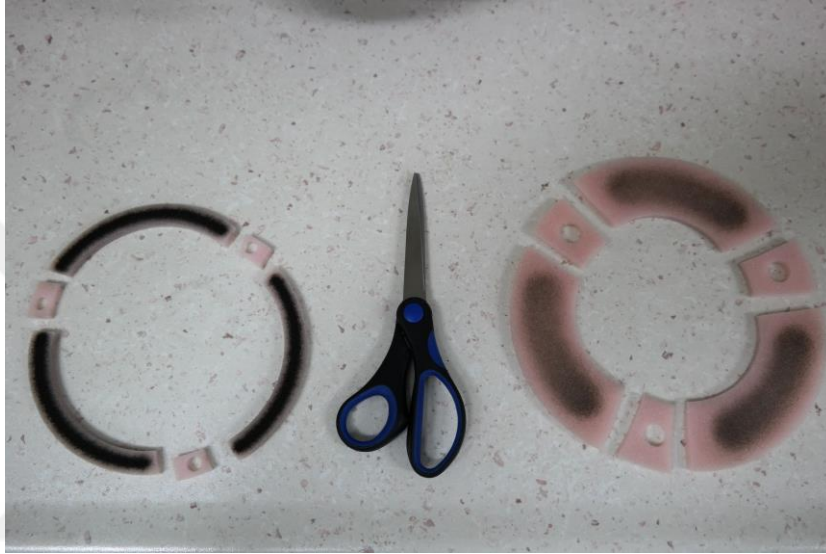
Atmosferik Alt a 1 örnekleme için BGI900 Yüksek Hacimli Kademeli Hava Örnekleyicisi (Şekil 2.4) kullanılmıştır. Bu cihaz, üst üste yer alan ve her biri farklı büyüklükteki partikülleri tutan üç katmandan meydana gelmektedir. Ancak bu tez çalışmasında 10 μ m'den büyük olan partikülleri ($PM > 10$) ve büyüklüğü 10 - 2,5 μ m olan partikülleri ($10 > PM > 2.5$) olan iki katman kullanılmıştır. Cihaz, havadaki partikülleri poliüretan filtreler üzerine toplamaktadır. Cihazın üst katmanı 10 μ m'den büyük olan partikülleri ($PM > 10$) toplarken, altta yer alan katman büyüklüğü 10 - 2,5 μ m olan partikülleri ($10 > PM > 2.5$) toplamaktadır.



Şekil 2.4 BGI 900 kademeli yüksek hacimli hava örnekleyicisi.

Cihaza hava, blower adı verilen özel bir elektrik motoru ile sağlamak ve 900 L hava çekme kapasitesine sahiptir. Belli bir açı ile konumlandırılmış yarıklar üzerinden havayı çekerek, poliüretan filtreler üzerine yönlendirmektedir. YHKHÖ cihazı ile elde edilen *Alternaria* alerjenlerinin

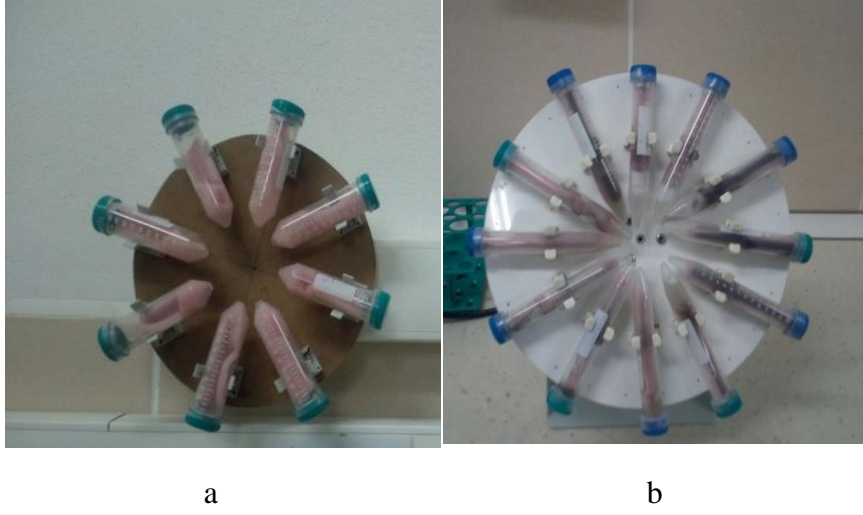
analizi için değişimi yapılan filtreler ise, her gün saat 12:00'de değiştirildikten sonra, laboratuvara getirilmiştir. Filtrelerin nem dengesinin sağlanması için oda sıcaklığında 2 saat süreyle kontrollü Őartlarda bekletilmiştir. Filtreler üzerinde eşit aralıklarla açılmış olan cihaz yerleşim deliklerinden üç eşit parçaya ayrılmıştır (Şekil 2.5). Üç eşit parçaya ayrılan filtre parçalarından iki tanesi çalışılmak üzere bir kilitli poşete, son parçası ise herhangi bir aksilik olmasına karşın yedek olarak ayrı bir kilitli poşete konulmuştur. Poşetler zerine yine ait oldukları tarih, istasyon adı ve filtre büyüklükleri yazılarak -20 °C'de saklanmıştır.



Şekil 2.5 PM>10, 10>PM>2.5 filtre parçalarının vida yerlerinden kesimi.

2.5 ATMOSFERİK ALT a 1 MİKTARININ ELISA YÖNTEMİ İLE ANALİZİ

Alerjen lmnde örneklerin hazırlanması için, daha önce polen alerjenlerini belirlemede kullanılan yöntem değiştirilerek izlenmiştir [55,60]. Bu yöntemde, her bir PM>10 filtre parçası için 50 ml'lik tp içerisine 15 ml, 10>PM>2.5 filtre parçası için 15 ml'lik tp içerisine 6 ml 0,1 M'lık Amonyum bikarbonat tamponu (pH 8.1) konularak, karanlıkta döner çalkalayıcı ile 4 saat süreyle ztlenmiştir (Şekil 2.6). Özütleme işlemi için %25 lik amonyak ve amonyum bikarbonat olmak üzere Bowin serum Albümin kullanılmıştır. PM>10 ve 10>PM>2.5 filtreleri için ayrı ayrı zt hazırlanmıştır. Ardından özütün berraklaştırılması için 6000g'de 4dk santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.6 PM $>$ 10 (a)ve 10 $>$ PM $>$ 2.5 (b) filtrelerinin özütlemesi aşaması.

Elde edilen özütler, 5 ml'lik alikotlara bölünmüş ve alerjen kararlılığının artırılması için 2'şer mikrolitre %10 lik BSA çözeltisi cam filakon içerisine konulmuştur. Ardından örnekler en az bir gece -80 °C'de dondurulduktan sonra örnekler liyofilize edilmiştir (Şekil 2.7). Bu şekilde her bir PM $>$ 10 filtre parçası için 3, 10 $>$ PM $>$ 2.5 parçası için ise 1 filakon hazırlanmıştır.



Şekil 2.7 PM $>$ 10 ve 10 $>$ PM $>$ 2.5 Alerjen örneklerinin liyofilize edilmesi.

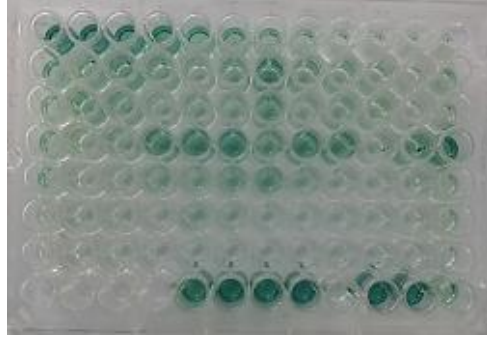
Liyofilizasyon için Telstar marka liyofilizatör kullanılarak 24 saat boyunca liyofilize edilmiştir. Ardından analize hazır hale getirilen örnekler kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır. Liyofilizasyon için kullanılan program Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1 Örneklerin liyofilize edilmesinde kullanılan program.

No	Aşama	Vakum	Süre	Raf sıcaklığı
1	Vakum ve Soğutma	0.200	0.5	-
2	Vakum ve Raf Isıtma	0.200	1	20
3	Vakum ve Raf Isıtma	0.200	12	20
4	Vakum ve Raf Isıtma	0.200	12	25

2.6 ALT a 1 ALERJEN MİKTAR ÖLÇÜMÜ

Atmosfer de yer alan Alt a 1 alerjeninin belirlenebilmesi için sandviç ELISA metodu kullanılmıştır. Alerjenin belirlenebilmesi için kit Indoor Biotechnologies firmasından temin edilmiştir. Alt a 1 alerjeni için monoklonal antikor kullanılmıştır. Alerjen hesaplaması, ng/ml cinsinden hesaplama yapılmıştır. Atmosferik Alt a 1 için sandviç ELISA yöntemine göre çalışan ticari kitlerden yararlanılmıştır. Ancak kit ile yapılan ön çalışmalarda kit içerisinde yer alan standart çözelti aralığının atmosferik alerjenlerin belirlenmesi için yeterli hassasiyete sahip olmadığı belirlenmiştir. Alternatif bir kit de temin edilemediğinden, kit tarafından sağlanan yöntemin modifikasyonu yoluna gidilmiştir. Öncelikle kit uygulama yönergesinde alerjenlerin belirlenmesi için elektron alıcısı olarak iş gören ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) boyası yerine daha hassas olan TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine) boya sistemi kullanılmış ve kitin hassasiyeti arttırılmıştır. Liyofilize haldeki hava örnekleri analiz öncesinde 0,5 ml PBS-T tamponu ile sulandırıldıktan sonra kullanılmıştır. Tamponun içeriği EK A'da sunulmuştur. Hava örneklerinden bir tanesi doğrudan olmak üzere 1:2 ve 1:4 oranında (PBS-T) ile seyreltilerek çalışılmıştır. Bu seyreltme oranları Hirst polen ve spor tuzağından elde edilen polen sayımlarına göre belirlenmiştir.



Şekil 2.8 Atmosferik örneklerin ELISA plakasındaki örnek yerleşim planı. İlk iki sıra standartlardan oluşurken tekrarlı örnekler alt alta konumlandırılmıştır.

ELISA plakların da yer alan ilk iki sırasının ilk 10 kuyusuna (A1-A10 ile B1-B10 kuyuları) protokolda belirtilen oranlarda seyreltilen standartlar ekilirken, A11-A12 ile B11-B12 kuyularına negatif kontrol sağlamak için %0.5 Tween 20 ve % 0,1 lik Bovin Serum Albümin içeren fosfat tamponu (TBS-T-BSA) ekilmiştir. Atmosfer örneklerinin ELISA plaklarına ekimi Şekil 2.8’de verilmiştir. ELISA yapım aşamaları detaylı bir aşağıda verilmiştir.

Her bir hava örneği kontrol amaçlı çift tekrarlı çalışılmış bu iki kuyunun alerjen miktarlarının ortalamaları alınarak hesaplama yapılmıştır. Optik yoğunluk değerleri arasında %20’den fazla fark olan hava örnekleri tekrardan çalışılmıştır.

ELISA yönteminin aşamaları kısaca şu şekildedir;

- 1.Kit içerisindeki antikor, pH’ı 9,6 olan 50mM karbonat/bikarbonat tamponu içerisinde 1/1000 oranında sulandırıldıktan sonra, boş bir ELISA plağına, her kuyuya 100 µl olacak şekilde konulur. Bu plak bir gece boyunca +4 °C’de çalkalanır.
- 2.Ertesi gün bu plak 3 kez içerisinde %0,05 oranında Tween 20 bulunan Fosfat Tamponu (PBS-T) ile 3 kez yıkanır.
- 3.Daha sonra kuyularda özgül olmayan bağlanmaları engellemek için %1 oranında Sığır Serum Albümini (BSA) içeren PBS-T tamponu ile 30 dakika süreyle kapatma işlemi gerçekleştirilir.
- 4.Fazla BSA’yı gidermek için plak 3 kez PBS-T tamponu ile yıkanır.
- 5.Uygun oranda %1’lik BSA PBS-T tamponu ile seyreltilen standart alerjenler ve hava örnekleri kuyulara eklenir ve 1 saat süreyle oda sıcaklığında inkübe edilir.
- 6.Kuyular tekrardan 3 kez PBS-T tamponu ile yıkandıktan sonra, yine kit içerisinde yer alan biyotin ile konjuge edilmiş antikor ile 1 saat süre ile işaretlenir. Bu antikor da %1 BSA içeren PBS-T tamponu ile 1/1000 oranında seyreltikten sonra kullanılır.

- 7.Özgül olmayan bağlanmaları engellemek için plak 3 kez PBS-T tamponu ile yıkanır.
- 8.1/1000 oranında seyreltilmiş streptoavidin-peroksidaz kompleksi ile 30 dk. oda sıcaklığında inkübe edilir.
- 9.Özgül olmayan bağlanmaları engellemek için plak 3 kez PBS-T tamponu ile yıkanır.
- 10.Son aşamada Sodyum sitrat tamponunda hazırlanmış 1ml'de 1mg TMB içeren DMSO çözeltisi ile antijen-antikor kompleksi görünür hale getirilir. Seyreltik sülfürik asit çözeltisi ile durdurulan bu reaksiyon sonucunda oluşan sarı renk 450 nm dalga boyunda okunur.

Kuyularda yer alan alerjen miktarı “Dört Parametrelili Lojistik Eğri” yöntemine göre standartlardan hazırlanacak grafik ile hesaplanacaktır. Elde edilen verilerin, atmosferik spor konsantrasyonu ile karşılaştırılabilmesi için ham veriler aşağıdaki formül kullanılarak bir metreküpte yer alan Alt a 1 konsantrasyonu hesaplanacaktır.

$$A = (B/2) \times (a \times b) / 432 \times 1000$$

A: metreküpteki piko gram cinsinden alerjen miktarı

B: ölçülen 1 ml'deki nanogram cinsinden alerjen miktarı

a: her filtre parçası başına hazırlanan tüp sayısı

b: sulandırma katsayısı

2.7 İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Spor konsantrasyonu ve Alt a 1 alerjen konsantrasyonları arasındaki karşılaştırmalarda Spearman korelasyon analizi ile gerçekleştirilmiştir Aerobiyojik veri setlerinin genelde normal dağılım göstermediklerinden dolayı bu analiz tercih edilmiştir. Yine de analiz öncesi verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile kontrol edilmiştir Ayrıca bu test, farklı yıllarda elde edilen verilerin aynı örneklemden gelip gelmediğinin kontrolü nde de kullanılmıştır [61]. Spor ve alerjen konsantrasyonları ayrıca, Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nden alınacak sıcaklık (ortalama, maksimum, minimum), nispi nem, atmosfer basıncı, rüzgâr hızı ve yağış gibi meteorolojik parametrelerle de kıyaslanmıştır. İstatistiksel analizler için SciPy python kütüphanesi [62,63] kullanılmıştır.



BÖLÜM 3

BULGULAR

Tez kapsamında 2016 yılının Mayıs ve Eylül aylarını kapsayan dönemde toplam 126 gün analiz gerçekleştirilmiştir. Analizler 23 Mayıs 2016 tarihinden 25 Eylül 2016 tarihine kadar olan sürelerde gerçekleştirilmiştir. Analizler sırasında ELISA kitlerinin iktisatlı kullanılması amacıyla öncelikle spor konsantrasyonunun en yoğun olduğu tarihten itibaren öne ve arkaya doğru ELISA yöntemi ile analiz gerçekleştirilmiş, art arda 5 gün ELISA analizi sonucunda eşik değerinin altında veri elde edildiği tarihte analizler sonlandırılmıştır.

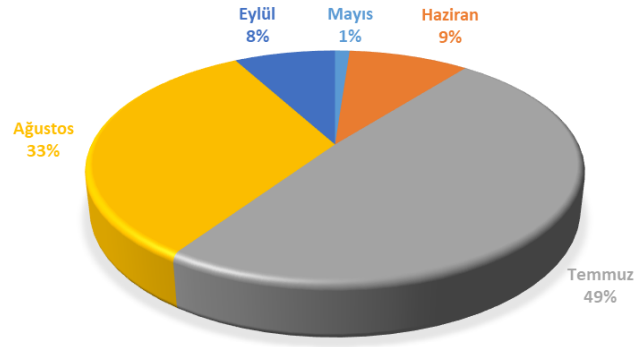
3.1 *ALTERNARIA* SPOR KONSANTRASYONU

Yukarıda belirtilen tarih aralığında yapılan analizler sonucunda Spor İntegrali 13169,52 spor*m³/gün olarak belirlenmiştir. Aylık olarak ele alındığında en yoğun spor konsantrasyonunun Temmuz ayında (6433,92 spor*m³/gün), en düşük spor konsantrasyonunun ise Mayıs (151,2 spor*m³/gün) ayında elde edildiği görülmektedir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 *Alternaria* spor konsantrasyonunun aylık dağılımı.

Ay	Spor Konsantrasyonu (spor*m ³ /gün)	Yüzdeler	Maksimum Konsantrasyon (spor*m ³ /gün)	En yoğun izlenen gün
Mayıs	151,2	1,1	41,76	30.05.2016
Haziran	1244,16	9,4	181,44	23.06.2016
Temmuz	6433,92	48,9	732,96	05.07.2016
Ağustos	4294,8	32,6	410,4	01.08.2016
Eylül	1045,44	7,9	155,52	09.09.2016

Benzer şekilde yüzdeler spor konsantrasyonu dağılımı da sırasıyla Temmuz Ağustos, Haziran, Eylül ve Mayıs ayları şeklinde devam ettiği belirlenmiştir. Tam analizin gerçekleştirildiği Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarında sayılan *Alternaria* spor konsantrasyonunun %90,9'u elde edilmiştir (Şekil 3.1).

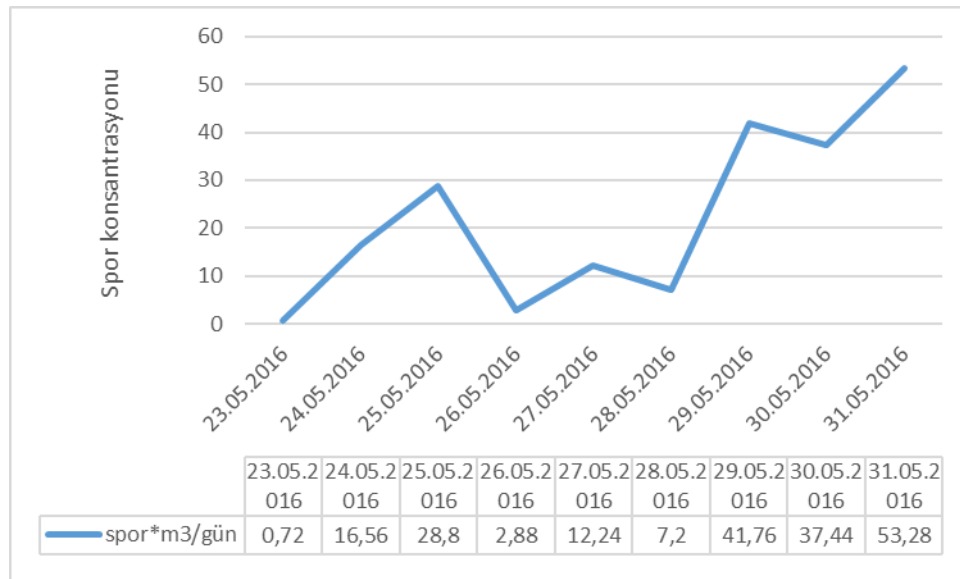


Şekil 3.1 *Alternaria* spor konsantrasyonunun aylara göre dağılımı.

Aylık en yoğun sporun izlendiği günlerde elde edilen konsantrasyon değerleri aylık toplamaları ifade edecek şekilde elde edilmiştir. Tez kapsamında en yoğun spor izlenen gün 732,96 spor*m³/gün ile 5 Temmuz tarihidir. Bunu sırasıyla 1 Ağustos (410,4 spor*m³/gün), 23 Haziran (181,44 spor*m³/gün), 9 Eylül (155,52 spor*m³/gün) ve 30 Mayıs (41,76 spor*m³/gün) tarihleridir (Çizelge 3.1).

3.1.1 Mayıs Ayı Spor Konsantrasyonu

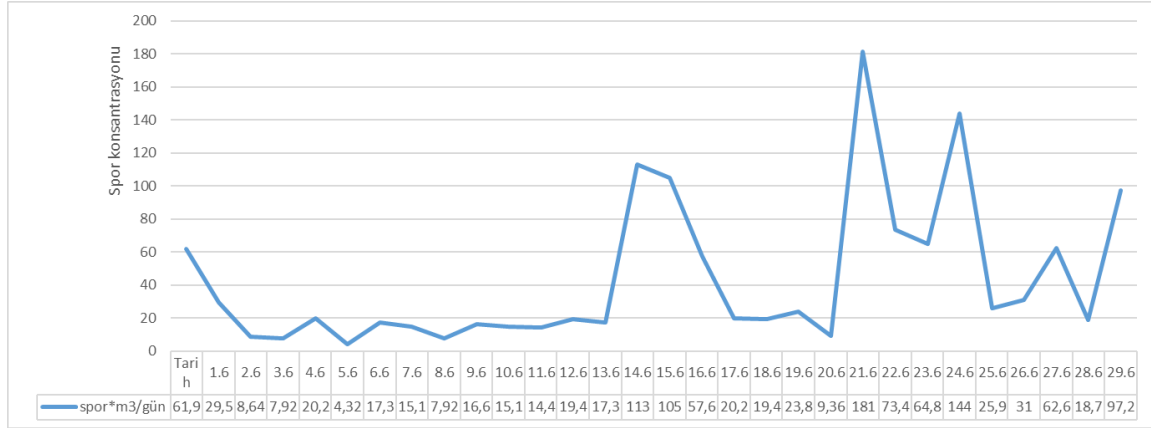
Mayıs ayı sonundan itibaren spor sayımı yapıldığından, elde edilen en düşük spor konsantrasyonu bu ayda elde edilmiştir. Bu ayda toplam 200,88 spor*m³/gün sayılırken, en yüksek konsantrasyon, 53,28 ile 31 Mayıs tarihinde gözlenmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Mayıs ayında gözlenen *Alternaria* spor konsantrasyonu.

3.1.2 Haziran Ayı Spor Konsantrasyonu

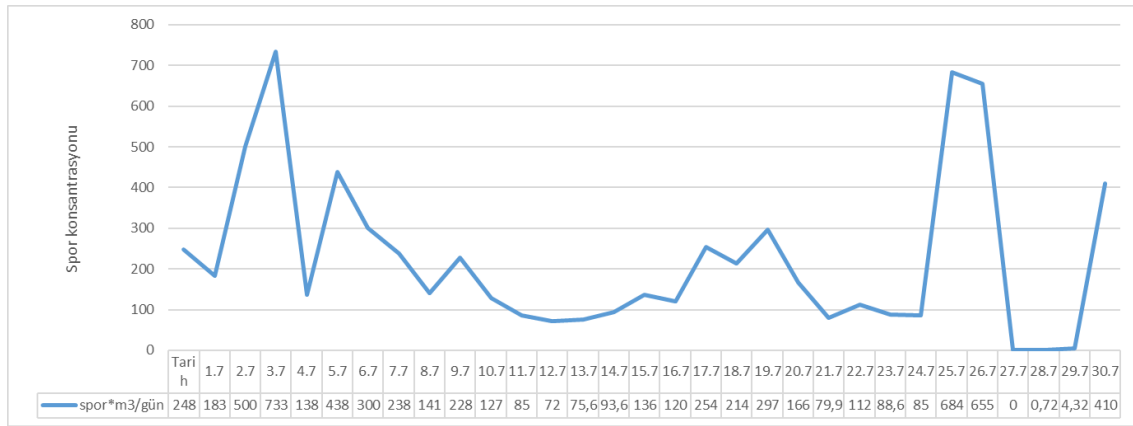
Haziran ayında toplam 1303,2 spor*m³/gün spor sayılmıştır. En yoğun spor ise 22 Haziran tarihinde 252 spor*m³/gün ile belirlenmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Haziran ayında gözlenen *Alternaria* spor konsantrasyonu.

3.1.3 Temmuz Ayı Spor Konsantrasyonu

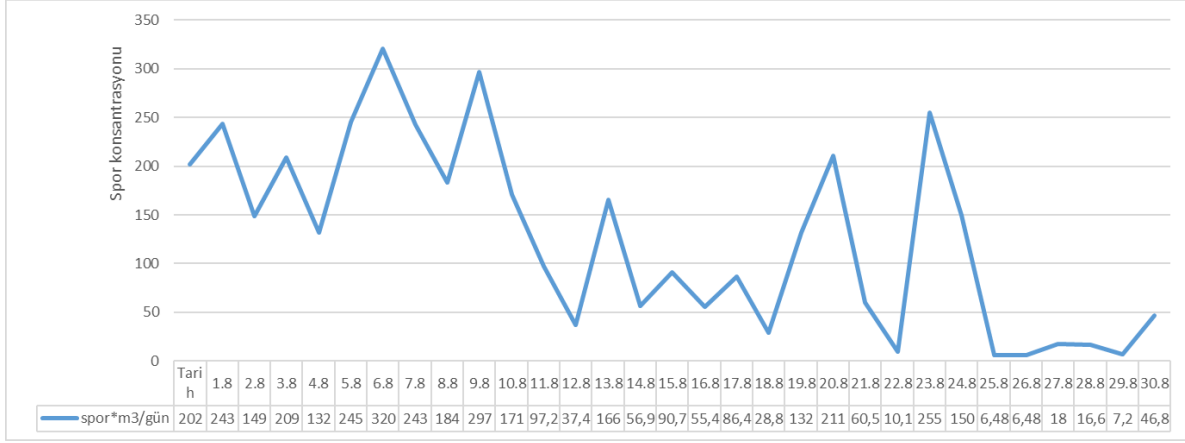
Temmuz ayında toplam 6907,68 spor*m³/gün spor sayılmıştır. En yoğun spor ise 20 Temmuz tarihinde 297,36 spor*m³/gün ile belirlenmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Temmuz ayında gözlenen *Alternaria* spor konsantrasyonu.

3.1.4 Ağustos Ayı Spor Konsantrasyonu

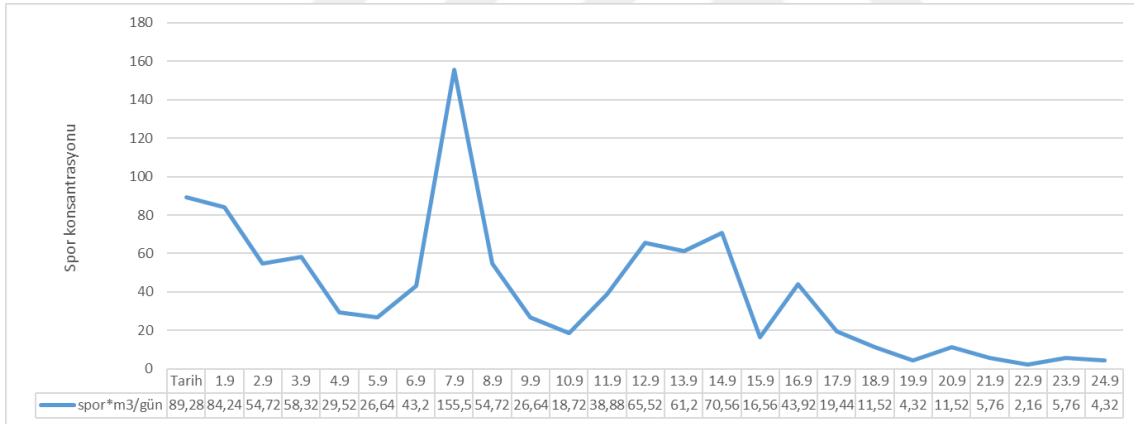
Ağustos ayında toplam 3931,2 spor*m³/gün spor sayılmıştır. En yoğun spor ise 7 Ağustos tarihinde 320,4 spor*m³/gün ile belirlenmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5 Ağustos ayında gözlenen *Alternaria* spor konsantrasyonu.

3.1.5 Eylül Ayı Spor Konsantrasyonu

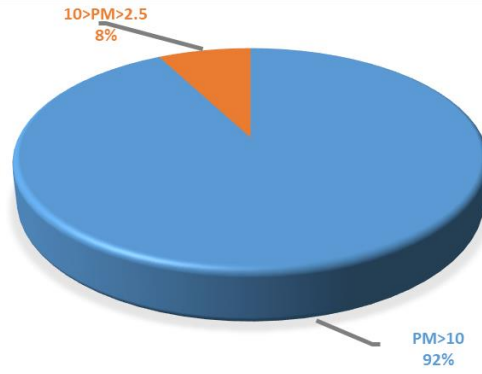
Eylül ayında 25 günlük sürede toplam 1002,96 spor*m³/gün spor sayılmıştır. En yoğun spor ise 8 Eylül tarihinde 155,52 spor*m³/gün ile belirlenmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 Eylül ayında gözlenen *Alternaria* spor konsantrasyonu.

3.2 ALT a 1 ALERJEN KONSANTRASYONU

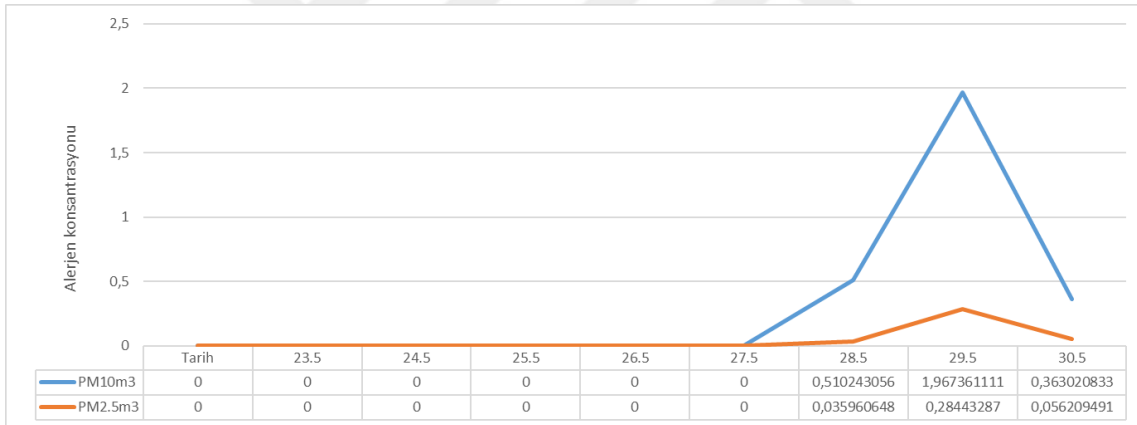
Spor konsantrasyonunun izlendiği 126 günlük periyotta aynı zamanda her iki filtre katmanında yer alan Alt a 1 alerjen konsantrasyonu ELISA yöntemi ile ölçülmüştür. Çalışmalar 3 tekrarlı olarak yürütülmüş, sonuçlar üç tekrarın ortalaması alınarak sunulmuştur. 126 günlük sürede toplam alerjen konsantrasyonu 101,3 pg*m³/gün Alt a 1 alerjeni ölçülmüştür. Bunun %92,3'ü PM>10 filtrelerinde belirlenirken, geri kalan %7,7'lik kısmı 10>PM>2.5 filtrelerinde belirlenmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 Tez kapsamında ölçülen toplam Alt a 1 alerjen konsantrasyonunun filtre kademelerine göre dağılımı.

3.2.1 Mayıs Ayı Alerjen Konsantrasyonu

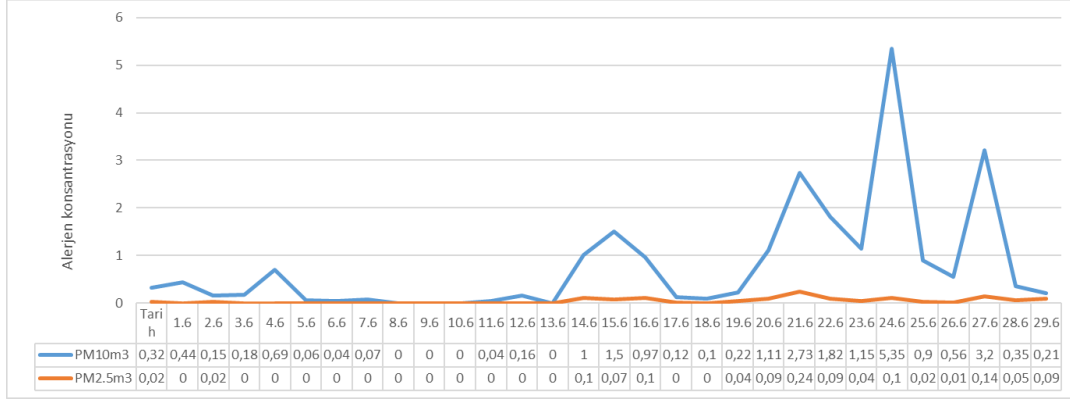
Bu ayda toplam $3,21 \text{ pg} \cdot \text{m}^3/\text{gün}$ alerjen ölçülürken, en yüksek konsantrasyon, $2,25 \text{ pg} \cdot \text{m}^3/\text{gün}$ ile 30 Mayıs tarihinde gözlenmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8 Mayıs ayında gözlenen Alt a 1 alerjen konsantrasyonunun günlük değişimi.

3.2.2 Haziran Ayı Alerjen Konsantrasyonu

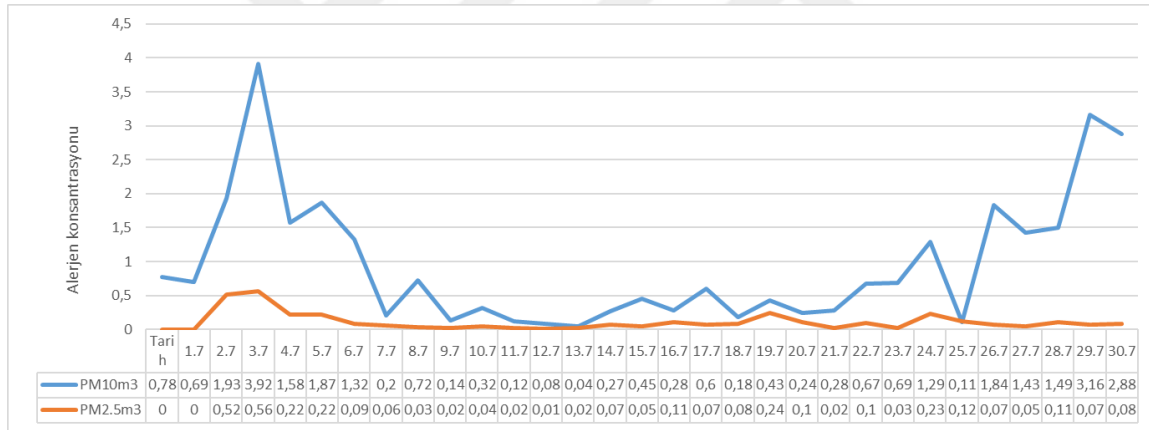
Bu ayda toplam $24,7 \text{ pg} \cdot \text{m}^3/\text{gün}$ alerjen ölçülürken, en yüksek konsantrasyon, $5,44 \text{ pg} \cdot \text{m}^3/\text{gün}$ ile 25 Haziran tarihinde gözlenmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9 Haziran ayında gözlenen Alt a 1 alerjen konsantrasyonunun günlük değişimi.

3.2.3 Temmuz Ayı Alerjen Konsantrasyonu

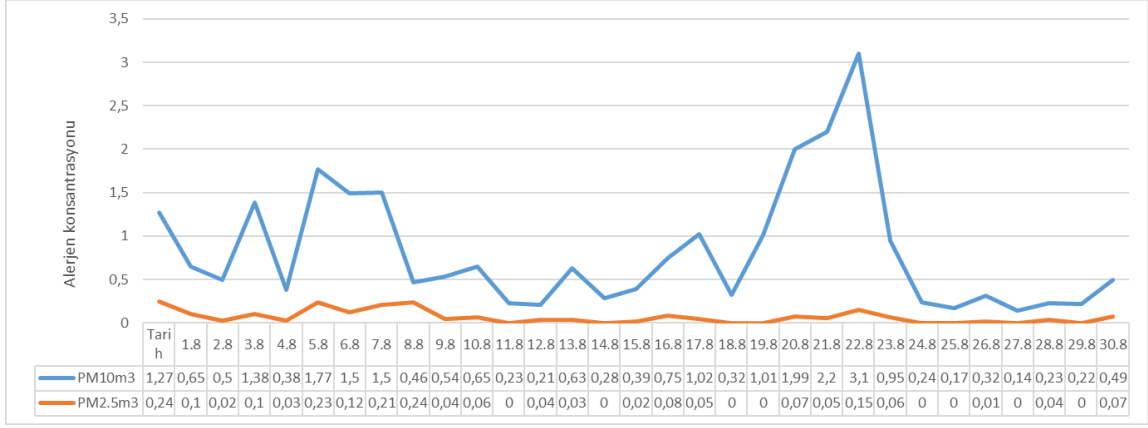
Bu ayda toplam 33,40 pg*m³/gün alerjen ölçülürken, en yüksek konsantrasyon, 4,47 pg*m³/gün ile 4 Temmuz tarihinde gözlenmiştir (Şekil 3.10).



Şekil 3.10 Temmuz ayında gözlenen Alt a 1 alerjen konsantrasyonunun günlük değişimi.

3.2.4 Ağustos Ayı Alerjen Konsantrasyonu

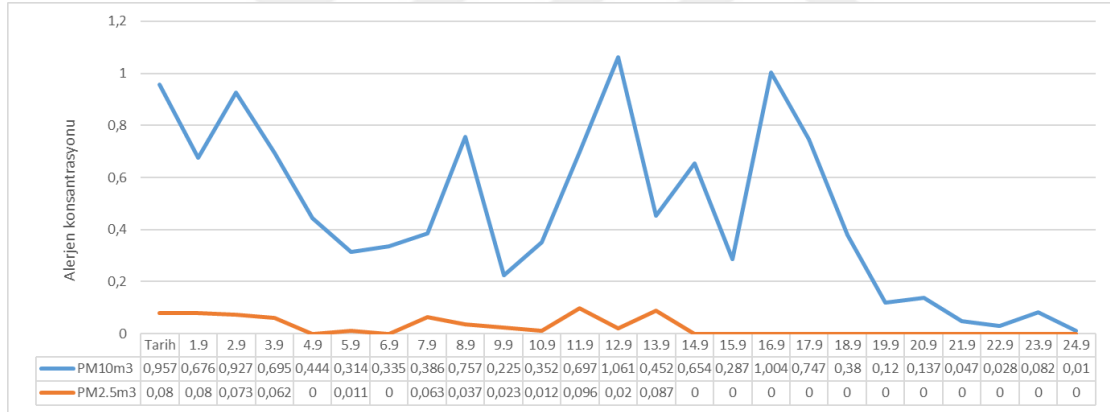
Bu ayda toplam 27,57 pg*m³/gün alerjen ölçülürken, en yüksek konsantrasyon, 3,25 pg*m³/gün ile 23 Ağustos tarihinde gözlenmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.11 Ağustos ayında gözlenen Alt a 1 alerjen konsantrasyonunun günlük değişimi.

3.2.5 Eylül Ayı Alerjen Konsantrasyonu

Bu ayda toplam 12,41 $\text{pg} \cdot \text{m}^3/\text{gün}$ alerjen ölçülürken, en yüksek konsantrasyon, 1,08 $\text{pg} \cdot \text{m}^3/\text{gün}$ ile 13 Eylül tarihinde gözlenmiştir (Şekil 3.12).



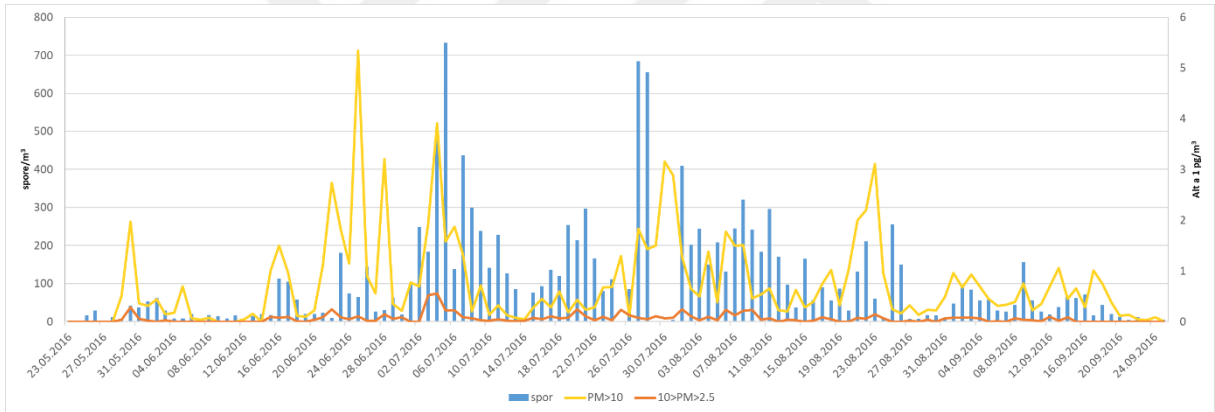
Şekil 3.12 Eylül ayında gözlenen Alt a 1 alerjen konsantrasyonunun günlük değişimi.

Alt a 1 alerjenlerinin mevsimsel dağılımına bakıldığında ise, en yoğun alerjen konsantrasyonunun hem $\text{PM} > 10$ hem de $10 > \text{PM} > 2.5$ filtreleri için Temmuz ayı olduğu görülmüştür. Bu ayda toplam 29,992 $\text{pg} \cdot \text{m}^3/\text{gün}$ alerjen $\text{PM} > 10$ filtrelerinde ölçülürken, 3,41 $\text{pg} \cdot \text{m}^3/\text{gün}$ alerjen $10 > \text{PM} > 2.5$ filtrelerinde ölçülmüştür. Her iki filtre bakımından da en yoğun alerjen gözlenen diğer aylar ise sırasıyla; Ağustos (27,6 $\text{pg} \cdot \text{m}^3/\text{gün}$), Haziran (24,7 $\text{pg} \cdot \text{m}^3/\text{gün}$), Eylül (12,4 $\text{pg} \cdot \text{m}^3/\text{gün}$) ve Mayıs (3,2 $\text{pg} \cdot \text{m}^3/\text{gün}$) aylarıdır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 Aylık gözlenen Alt a 1 alerjen miktarları ve yüzelikleri.

Aylar	PM>10		10>PM>2.5		Top.Al	
	Miktar (pg*m ³ /gün)	Yüzde	Miktar (pg*m ³ /gün)	Yüzde	Miktar (pg*m ³ /gün)	Yüzde
Mayıs	2,840625	3,0	0,376603009	4,9	3,217228	3,2
Haziran	23,42775	25,0	1,235435764	15,9	24,66318	24,4
Temmuz	29,99196	32,1	3,410913194	44,0	33,40288	33,0
Ağustos	25,49337	27,3	2,080353009	26,8	27,57372	27,2
Eylül	11,77319	12,6	0,644781829	8,3	12,41797	12,3

Tez süresince ölçülen Alt a 1 alerjen miktarının günlük değişimine bakıldığında en yoğun alerjenlerin yaz döneminde ölçüldüğü görülmektedir. İlginç bir bulgu hem Temmuz hem de Ağustos ayının ilk ve son haftalarında yoğun bir spor ve alerjen konsantrasyonu gözlenirken, ay ortasında belirgin düşüş gözlenmiştir (Şekil 3.13).



Şekil 3.13 Tez kapsamında izlenen *Alternaria* spor ve Alt a 1 alerjen konsantrasyonunun günlük değişimi.

Maksimum alerjen konsantrasyonları için elde edilen motif, toplam alerjen konsantrasyonundan farklılık göstermiştir. Toplam alerjen en fazla Temmuz ayında gözlenirken, en yoğun alerjen konsantrasyonun gözleendiği gün PM>10 filtreleri için Haziran ayındır. 10>PM>2.5 filtrelerindeki durum toplam alerjen konsantrasyonu ile benzerlik göstermiştir. Bu filtrelerde en yoğun alerjenin gözleendiği gün Temmuz ayındadır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3 En yoğun alerjenlerin gözleendiği günler.

Aylar	PM>10		10>PM>2.5	
	Miktar (pg*m ³ /gün)	Tarih	Miktar (pg*m ³ /gün)	Tarih
Mayıs	1,97	30.05.2016	0,28	30.05.2016
Haziran	5,35	25.06.2016	0,24	22.06.2016
Temmuz	3,92	04.07.2016	0,56	4.07.2016
Ağustos	3,10	23.08.2016	0,24	1.08.2016
Eylül	1,06	13.09.2016	0,10	12.09.2016

3.3 ATMOFERİK *ALTERNERİA* SPOR VE ALT a 1 ALERJEN KONSANTRASYONUNUN BİRBİRLERİ VE METEOROLOJİK FAKTÖRLERLE BAĞLANTISI

Tez kapsamında izlenen iki aerobiyolojik parametrenin değişimine etki eden meteorolojik faktörleri belirleyebilmek amacıyla korelasyon analizinden yararlanılmıştır. Korelasyon analizlerinde en çok kullanılan iki test Pearson ve Spearman korelasyon analizleridir. Bu iki testten hangisinin üretilen verilere uygun olduğunun belirlenmesi için analiz öncesi veriler normalite testine tabi tutulmuştur. Genel olarak aerobiyolojik verilerin normal dağılıma uymadığı belirtilmiş olsa da veriler yine de kontrol edilmiştir.

Çizelge 3.4 Zonguldak iline ait mevsim normalleri.

	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Yıllık
Ort. Sıcaklık	6,2	5,7	7,5	11,3	15,5	19,8	22,1	22,1	18,8	15,1	11,2	8,2	13,6
Ort. Mak. Sıcaklık	9,3	9,1	10,9	15,0	18,8	23,1	25,2	25,4	22,5	18,6	14,7	11,4	17,0
Ort. Min. Sıcaklık	3,7	3,1	4,6	8,2	12,1	16,1	18,3	18,6	15,6	12,4	8,5	5,7	10,6
Ort. Yağışlı Gün Sayısı	18,1	15,5	14,6	12,3	10,4	9,1	7,8	6,8	9,4	13,6	14,4	18,0	150,0
Aylık Top. Yağış Ort. (mm)	129,2	88,3	89,9	56,9	49,6	76,0	84,7	83,5	126,4	161,5	151,1	149,6	1246,7

Meteoroloji Genel Müdürlüğü web sayfasından edinilen verilere göre, Zonguldak ilinde yıllık ortalama sıcaklık 13,6 C° olarak ölçülmüştür. Yine aylık bazda yıllık ortalama yağış miktarı 1246,7 mm olarak belirlenmiş durumdadır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.5 Zonguldak Meteoroloji istasyonunda 2016 yılında kaydedilen çeşitli meteorolojik parametreler.

	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Yıllık
Ort. Sıcaklık	5,1	9,8	9,8	14,7	15,5	20,4	21,9	23,9	19,8	14,6	11,4	4,3	14,3
Ort. Mak. Sıcaklık	8,2	13,7	13,8	19,2	19	24,2	25,3	27,4	23,9	17,8	15,4	7,1	18
Ort. Min. Sıcaklık	2,4	6,5	6,5	10,1	12,4	16,7	18,1	20,5	15,9	11,9	8,3	2	11
Ort. Hava Basıncı	1001,7	1003	998,1	998,1	996,8	997,3	997,4	997,8	1000,8	1004,1	1005	1008	1000
Ort. Nispi Nem	77,5	72,4	69,8	62,1	80,5	78,2	83,4	88,4	79,6	87,6	76	80	78
Ort. Rüzgar Hızı	2,6	2,2	2,2	2	1,9	1,8	2	1,9	1,9	1,8	2,2	2,2	2,1
Aylık Top. Yağış	171,8	94,4	61,5	58,1	112,8	53,5	12,6	117,6	165,2	92,7	194	195,2	1329

Mevsim normalleri ile 2016 yılında kaydedilen veriler karşılaştırıldığında, 2016 yılının mevsim normallerine göre daha sıcak geçtiği görülmektedir. Yine ayrıca yıllık toplam yağış miktarda mevsim normallerinden fazla olarak kaydedilmiştir. Özellikle Mayıs ayında mevsim normallerine göre 2 kattan daha fazla yağış görülmüştür (Çizelge 3.5).

3.3.1 Atmosferik Alternaria Spor Konsantrasyonu ile Alt a 1 Alerjen Konsantrasyonu Arasında İlişki

Atmosferde izlenen spor konsantrasyonu ile her iki kademedeki bulunan alerjen miktarları arasındaki ilişkinin yanı sıra farklı kademelerde toplanan alerjenler arasındaki bağıntı da ayrı ayrı araştırılmıştır.

Çizelge 3.6 Zonguldak ili atmosferinde 2016 yılında kaydedilen *Alternaria* spor ve farklı kademelerde ölçülen Alt a 1 konsantrasyonları arasındaki ilişki.

	Spor	PM>10	10>PM>2.5	Toplam Al.
Spor	1	0,496**	0,6**	0,525**
PM>10	0,496**	1	0,674**	0,995**
10>PM>2.5	0,6**	0,674**	1	0,733**

** p<0,01

Tez sonucunda hem spor konsantrasyonu ile alerjen konsantrasyonu arasında da hem de farklı kademeler tarafından toplanan alerjenlerin kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon elde edilmiştir. Çizelge 3.6'de verilen tabloda korelasyon değerleri -1 ila 1 arasındaki skalaya uygun olarak renklendirilmiştir. Ayrıca korelasyonun anlam derecesi de bu toplama simgeler ile verilmiştir. Her ne kadar toplam alerjeninin %90'ından fazlası PM>10

filtrelerinde elde edilmesine karşın, 10>PM>2.5 filtreleri ile spor konsantrasyonu arasındaki korelasyonun gücü, PM>10 filtrelerinde ölçülen alerjenler ile arasındaki korelasyon değerinden fazla olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.6).

Alerjenlerin kendi aralarında korelasyonları incelendiğinde ise her iki filtreden elde edilen korelasyon değerinin oldukça yüksek ($r=0,674$) olduğu yapılan istatistiksel analiz sonucunda belirlenmiştir.

Toplam alerjen konsantrasyonu ile hem spor hem de her iki filtreden elde edilen alerjenler arasında da anlamlı pozitif korelasyon belirlenmiş durumdadır. Alerjenlerin büyük bir kısmı PM>10 filtrelerinde belirlendiğinden, toplam alerjen ile bu filtreden ölçülen alerjenler arasında oldukça yüksek derecede pozitif korelasyon elde edilmiştir.

3.3.2 Alternaria Spor ve Alt a 1 Alerjen Konsantrasyonlarının Meteorolojik Faktörlerle Bağlantısı

Tez kapsamında aynı zamanda izlenen parametreler meteorolojik faktörlerle değişimi incelenmiştir. Bu kapsamda Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nden temin edilen günlük Sıcaklık (Ortalama, Minimum, Maksimum), Ortalama Nispi Nem, Hava basıncı, Rüzgar hızı ve Yağış gibi değişkenler ile değişimler incelenmiştir.

Çizelge 3.7 Alternaria spor, PM>10, 10>PM>2.5 filtrelerinde ölçülen alerjenler ile meteorolojik faktörler arasındaki değişim.

	Spor	PM>10	10>PM>2.5	Toplam Al.
Ort. Sıc.	0,404**	0,489**	0,376**	0,484**
Min. Sıc.	0,406**	0,518**	0,385**	0,514**
Mak. Sıc.	0,345**	0,447**	0,29**	0,439**
Hava Basıncı	-0,109	-0,092	-0,147	-0,105
Ort. Nispi Nem	0,1	0,202*	0,134	0,196*
Rüzg. Hızı	0,05	-0,011	0,076	0,002
Yağış	-0,259**	-0,219*	-0,128	-0,214*

Çizelge 3.7 incelendiğinde izlenen parametrelerin meteorolojik faktörler ile oldukça uyumlu değişim gösterdiği görülmektedir. İzlenen parametreler genellikle meteorolojik faktörler ile

istatistiksel olarak pozitif yönde etkilenirken, sadece yağış artışından negatif yönde etkilenmiştir.

Sıcaklık hem spor hem de alerjenler üzerine olumlu etki göstermiştir. Sıcaklık değerleri kendi arasında karşılaştırıldığında, minimum sıcaklık değerlerinin diğer ortalama ve maksimum sıcaklık gibi diğer parametrelere oranla bu parametrelerin değişiminde daha çok etkili olduğu belirlenmiştir.

Ortalama Nispi nem sadece alerjenler üzerinde olumlu etkiye sahiptir. Ancak tüm korelasyon tablosundaki değerler göz önüne alındığında, ortalama nispi nemin diğer parametrelere göre daha az etkili olduğu söylenebilir.

İlginç bir durum ise yağış artışı sadece spor ve PM>10 filtrelerindeki alerjenleri olumsuz yönde etkiler iken, 10>PM>2.5 filtrelerindeki alerjenler ile istatistiksel olarak anlamlı bir değişim elde edilememiştir.

Buna karşın rüzgar hızı ve hava basıncı ile anlamlı herhangi bir korelasyon elde edilememiştir.

BÖLÜM 4

TARTIŞMA

Tez kapsamında 2016 yılı boyunca Zonguldak ili atmosferinde yer alan *Alternaria* ve Alt a 1 alerjen konsantrasyonu izlenmiştir. Bu tez çalışması Zonguldak ilinde gerçekleştirilen sınırlı sayıdaki küf sporu izleme çalışmalarından bir tanesi olmasının yanı sıra, Zonguldak ilinde gerçekleştirilen ilk atmosferik küf alerjeni izleme çalışmasıdır. Aynı zamanda bu çalışma, ülkemizdeki ikinci atmosferik küf alerjen izleme çalışmasıdır.

Ankara ilinde gerçekleştirilen benzer bir çalışmada 2015 ve 2016 yıllarında atmosferdeki *Alternaria* sporu ile Alt a 1 alerjeni izlenmiştir. Bu çalışmada spor integrali olarak sırasıyla 5597, 1339 spor*m³/gün bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise spor integrali 13346 spor*m³/gün olarak belirlenmiştir (Çizelge 5.1). Aynı yılda yapılan çalışmalar arasında yaklaşık olarak 10 kat farklılık belirlenmiştir. Bu durum Zonguldak ilinin iklimi ile bağlantılıdır.

Çizelge 5.1 Ankara ve Zonguldak illerinde yapılan benzer çalışmaların karşılaştırması.

Parametre	Ankara		Zonguldak
	2015	2016	2015
Spor	5597	1339	13346
Alt a 1	33,33	58,93	101,28

Ayrıca yine iklim ile paralel olarak Zonguldak ilinin yarısından fazlasının yaprak döken, *Quercus*, *Fagus* ve *Carpinus* gibi ağaçlardan oluşan geniş bir orman örtüsü ile kaplıdır. Bu durumda bitki patojeni olan *Alternaria* küf mantarı için uygun bir gelişme ortamı sağlamaktadır. Zonguldak ilinin yüksek nem oranları ile beraber bu faktör göz önüne alındığında, atmosferik spor ve alerjen yükünün yüksek olması beklenebilecek bir durumdur.

Yine aynı çalışmada sırasıyla toplam 33,33 pg*m³/gün, 58,93 pg*m³/gün Alt a 1 alerjeni ölçülmüştür. Buna karşın Zonguldak ili atmosferinde ölçülen toplam alerjen miktarı ise 101,28 pg*m³/gün 'dir. Bu bakımdan alerjenler arasındaki farklılık, spor konsantrasyonları arasındaki dikkate değer farklılığı ifade etmemektedir. Spor konsantrasyonları arasındaki fark yaklaşık 10 iken, alerjenler arasındaki farklılık yaklaşık 2 kattır.

Bu iki çalışma arasındaki diğer bir önemli farklılık ise alerjenlerin katmanlara göre dağılımında belirlenmiştir. Ankara ilinde ölçülen Alt a 1 alerjenlerinin büyük bir kısmı (%93) 10>PM>2.5 filtrelerinde belirlenirken, Zonguldak ilinde alerjenlerin yaklaşık %10 nu bu filtrelerde belirlenmiş durumdadır.

Benzer bir çalışma Polonya'nın Poznan ilinde gerçekleştirilmiş ve burada üç yıl boyunca izleme çalışması yürütülmüştür. Bu çalışmada da, tez çalışmamızda olduğu gibi yüksek hacimli bir hava örnekleyicisi kullanılmıştır. Çalışma sonuçlarında bizim bulduğumuza benzer, filtreler arası farklılıktan bahsedilmemiştir. Çalışmasında toplam spor sayısının yıllara bağlı olarak 14025 ile 46322 arasında değiştiğini bildirmiştir. Bizim çalışmamızda ise 13346 adet spor sayılmıştır. Bu açıdan az çok benzer sonuçlar elde ettiğimiz söylenebilir. Ayrıca çalışmasında herhangi bir alerjen konsantrasyonu vermemiştir. Sadece günlük spor başına düşen alerjen miktarının ortanca değerinin $7,9 \times 10^{-3}$ ile $9,8 \times 10^{-3}$ arasında değiştiğini belirtmiştir. Zonguldak ilinde ise bu değer $5,56 \times 10^{-3}$ olarak bulunmuştur. Bu açıdan, Zonguldak ilindeki sporların Poznan kentinde gözlenenlere göre daha az alerjen taşıdığı söylenebilir. Bu çalışmada aynı zamanda sporlar ile alerjenler arasında yıllara bağlı olarak 0,290 ile 0,480 oranında değişen korelasyon bulunmuştur. Bu açıdan tez çalışmasında elde edilen korelasyon değerleri bu çalışma ile yakınlık göstermektedir. Bununla beraber, özellikle 10>PM>2.5 filtrelerinde yer alan alerjenler ile spor arasındaki nispeten daha yüksek düzeydeki korelasyon bu filtrelerdeki alerjenlerin daha çok spor kaynaklı olabileceği konusunda önemli ip uçları sunmaktadır. Hindistan'nın batı kısmında yer alan Rajkot şehrinde yapılan bir çalışmada PM2.5 filtrelerinde yer alan küf sporları analiz edilmiş ve bu filtrelerde *Aspergillus* ve *Penicillium* gibi oldukça küçük sporları olan küflerin yanı sıra *Alternaria*'da dominant olarak bulunmuştur [64].

Öte yandan yukarıda bahsedilen her iki çalışmada da spor ve alerjenlerin meteorolojik faktörlerle bağlantısı konusunda farklı sonuçla elde edilmiştir. Bu tez çalışması da dahil olmak üzere bütün atmosferik Alt a 1 alerjen izleme çalışmalarında sıcaklıkla negatif ya da pozitif de olsa bir korelasyon elde edilmiştir. Ankara ilinde bizim sonuçlarımıza benzer şekilde sıcaklık

değerleri ile pozitif korelasyon elde edilirken, Poznan kentinde 2014 ve 2015 yıllarında spor alerjenitesi ile negatif, 2016 yılında ise pozitif korelasyon elde edilmiştir. Öte yandan tez çalışmamızda nispeten en düşük korelasyon değerlerinin elde edildiği ortalama nispi nem, Poznan kentinden en önemli parametrelerden biri olarak bulunmuştur. Ankara ilin de ise bizim çalışmamızda korelasyon elde edilemeyen rüzgar hızının önemli bir etmen olduğu belirlenmiştir.

Birçok çalışma yağmurun atmosferik spor içeriği üzerine olumsuz etkisini ortaya koymakla beraber, yağmur sonrasında sporların arttığını bildirmişlerdir. Bu açıdan tez sonuçları irdelendiğinde, PM>10 filtrelerinde yer alan alerjenler ile spor konsantrasyonunun benzer bir özellik göstererek yağıştan olumsuz etkilendiği görülmektedir. Bu durum, yağmur sonrası hif gelişimi ile atmosfere karışan hiflerin varlığının bir belirteci olarak düşünülebilir.

Bizim çalışmamızda Alt a 1 alerjen konsantrasyonunun kademeler arasında yüksek bir farklılık göstermesi yukarıdaki literatürlerden farklıdır. *Alternaria* sporları büyük sporlar olmakla beraber, bunlardan bir kısmının alt filtrelerde belirlenmesi beklenmektedir. Ancak Zonguldak ilinde gerek serbest gerek ise yaprak parçaları ile beraber taşınan büyük boyutlu hifler, örnekleyicinin üst katmanında birikmiş ve Alt a 1 konsantrasyonunun artmasına neden olmuş olabilir.

Bu veriler ışığında bizim özellikle Alt a 1 konsantrasyonu ile ilgili verilerimizin farklı olması Zonguldak ili iklimi ve bunun ile bağlantılı olarak vejetasyonu ile bağlantılı olabilir. Hem Ankara hem de Poznan kenti göz önüne alındığında bu iki kentten hem ortalama nispi nem değerlerinin hem de ortalama sıcaklıklarının Zonguldak iline göre daha düşük olduğu görülmektedir. Bu açıdan Zonguldak ili bu küfün üremesi için diğer iki ile göre daha uygun bir ortam sağlamaktadır.

2016 yılı için belirlenen *Alternaria* spor konsantrasyonları, Zonguldak ilinde volumetrik cihaz ile daha önce gerçekleştirilen Doktora tezi ile kıyaslandığında, benzer sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Söz konusu Doktora tez çalışması 2007-2009 yılları arasında gerçekleştirilmiş olup sırasıyla 11665, 21107 ve 13341 spor*m³/gün spor sayılmıştır. Toplam spor konsantrasyonunun benzerliğinin aksine sporların yıl içerisindeki dağılımında farklılıklar olduğu görülmüştür. 2007-2009 yıllarında en yoğun *Alternaria* konsantrasyonu Haziran ayında gözlenmişken, bizim çalışmamızda ise Temmuz ayı başında en yüksek konsantrasyon

izlenmiştir. Her ne kadar *Alternaria* ile korelasyon analizi gerçekleştirilmemiş olsa da, toplam spor konsantrasyonları ile meteorolojik faktörler arasındaki ilişki araştırılmış durumdadır. Bu çalışmada *Alternaria* sporlarının toplam spor konsantrasyonunun %14,41'ni oluşturduğu ve yaygın ikinci spor olduğu göz önüne alınarak, bu korelasyon sonuçlarını bizim çalışmamızla karşılaştırmak mümkün olabilecektir. Analizler sonucunda 2007-2009 yılları arasında ortalama sıcaklıklar ile spor konsantrasyonları arasında anlamlı bir pozitif korelasyon elde edilmiştir [65]. Yine yağış ile negatif korelasyon elde edilmiştir. Görüleceği gibi hem toplam konsantrasyon hem de meteorolojik parametreler ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ortalama sıcaklığın bu sporların görülmesinde önemli bir etmen olduğu gerçeğinden yola çıkılarak, en yoğun spor konsantrasyonunun elde edildiği ayda görülen kayma ise küresel iklim değişiklikleri ile açıklanabilir.

Yakın bölgemizde yapılan bir başka çalışmada ise 2006-2007 yılında Kastamonu ili atmosferinde 16746 - 54997 spor*m³/gün *Alternaria* sporu sayılmıştır. Bu açıdan sonuçlarımız ile bu çalışma arasında benzerlik bulunmaktadır.

Ülkemizde gerçekleştirilen *Alternaria* izleme çalışmalarında meteorolojik faktörlerin bu spor konsantrasyonunun değişimi üzerine etkiler konusunda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Eskişehir atmosferinde yapılan bir çalışmada, yağış, sıcaklık ve rüzgâr hızı ile herhangi bir korelasyon elde edilememişken, nispi nem ile anlamlı korelasyon elde edilmiştir [66]. Bu durum Eskişehir ve Zonguldak illerinin coğrafi konumu ile bağlantılı olabilir. Yine Eskişehir gibi nispeten kurak bir iklime sahip olan Gaziantep ilinde yapılan bir başka çalışmada da 2011 yılında nispi nem ile negatif korelasyon elde edilmiştir. Eskişehir ilinin aksine bu ilde çalışılan her iki yıl (2010-2011) için sıcaklık ile pozitif korelasyon elde edilmiştir [67]. Öte yandan uzun süreli çalışmalar incelendiğinde, artan sıcaklık ve azalan nem konsantrasyonunun *Alternaria* sporları üzerinde olumsuz etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Danimarka'da yapılan yirmi altı yıllık bu çalışmada ayrıca *Alternaria* sporlarının sezonsal karakteristiği ile ilgili istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir eğilim bulunamamıştır [68]. Ancak regresyon analizlerinde bu iki parametrenin *Alternaria* spor konsantrasyonunu açıklayabileceğine vurgu yapılmıştır [69]. Bu açıdan ileride yapılması planlanan çalışmalarda regresyon analizlerinin yapılması bu açıdan yararlı olacaktır.

Bu çalışma sonucunda gerek bitkilerde gerek ise insanlarda patojen olan bu alerjenin atmosferde yüksek miktarda bulunduğu belirlenmiştir. Özellikle PM 10 filtrelerinde bulunan bu alerjenin üst solunum yolu hastalıklarını tetikleyebilmesi oldukça muhtemeldir. Öte yandan her ne kadar üst katmanda yer alan alerjenlerin fazlalığından dolayı baskılanan alt kademede tutulan alerjenlerin de Astım gibi alt solunum yolları hastalıklarını tetikleme potansiyelleri bulunmaktadır. Elde edilen veriler aslında bu küf alerjisinin özellikle Haziran ve Temmuz ayları gibi halk arasında ilkbahar olarak bilinen alerji mevsiminin dışında olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle tıp doktorlarının özellikle yaz aylarında bu alerjiye dikkat etmeleri gerekmektedir.





KAYNAKLAR

- [1] **Şaşıhüseyinoğlu A Ş, Özhan A K, Serbes M, Duyuler G A, Bingöl G, Yılmaz M and Altıntaş D U** (2017) Çocukluk yaş grubunda deri testi ile allerjen duyarlılığının dağılımı. *Asthma Allergy Immunology*, 15 (1):43-48.
- [2] **Smith E G** (1984) *Sampling and identifying allergenic pollens and molds. An illustrated manual for physicians and lab technicians*. ISBN: 0-930961-00-5, Blewstone Press,
- [3] **Salvaggio J and Aukrust L** (1981) Mold-induced asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 68 (5): 327–346.
- [4] **Kalyoncu A F, Çöplü L, Selcuk Z T, Emri A S, Kolacan B, Kocabaş A, Akkoçlu A, Erkan L, Şahin A and Barış Y I** (1995) Survey of the allergic status of patients with bronchial asthma in Turkey: a multicenter study. *Allergy*, 50 (5): 451–455.
- [5] **La-Serna I, Dopazo A and Aira M J** (2002) Airborne fungal spores in the Campus of Anchieta (la laguna, Tenerife/Canary Is.). *Grana*, 41 (2): 119–123.
- [6] **Corsico R, Cinti B, Feliziani V, Gallesio M T, Liccardi G, Loreti A, Lugo G, Marcucci F, Marcer G and Meriggi A** (1998) Prevalence of sensitization to *Alternaria* in allergic patients in Italy. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 80 (1): 71–76.
- [7] **Neukirch C, Henry C, Leynaert B, Liard R, Bousquet J and Neukirch F** (1999) Is sensitization to *Alternaria alternata* a risk factor for severe asthma? A population-based study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 103 (4): 709–711.
- [8] **Beyoğlu S Y and Pınar N M** (2006) Cladosporium Link Ve Alternaria Nees Ex Wallroth Sporlarının Adana Atmosferindeki Miktarları Ve Meteorolojik Faktörlerin Spor Miktarı Üzerine Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 69 s.
- [9] **D'amato G, Chatzigeorgiou G, Corsico R, Gioulekas D, Jäger L, Jäger S, Kontou-Fili K, Kouridakis S, Liccardi G, and Meriggi A** (1997) Evaluation of the prevalence of skin prick test positivity to *Alternaria* and *Cladosporium* in patients with suspected respiratory allergy: a European multicenter study promoted by the Subcommittee on Aerobiology and Environmental Aspects of Inhalant Allergens of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy*, 52 (7): 711–716.
- [10] **Perzanowski M S, Sporik R, Squillace S P, Gelber L E, Call R, Carter M and Platts-Mills T A** (1998) Association of sensitization to *Alternaria* allergens with asthma among school-age children. *Journal of allergy and clinical immunology*, 101 (5): 626–632.
- [11] **Peat J K, Dickerson J and Li J** (1998) Effects of damp and mould in the home on respiratory health: a review of the literature. *Allergy*, 53 (2): 120–128.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [12] **Güneser S, Atici A, Köksal F and Yaman A** (1994) Mold allergy in Adana, Turkey. *Allergologia et immunopathologia*, 22 (2): 52–54.
- [13] Ascus-an overview ScienceDirect Topics. <https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology/ascus> (accessed February 24, 2020).
- [14] **Soares D J, Barreto R W and Braun U** (2009) Brazilian mycobiota of the aquatic weed *Sagittaria montevidensis*. *Mycologia*, 101 (3): 401–416.
- [15] **Nowicki M, Nowakowska M, Niezgoda A and Kozik E** (2012) *Alternaria* black spot of crucifers: symptoms, importance of disease, and perspectives of resistance breeding. *Vegetable Crops Research Bulletin*, 76: 5–19.
- [16] **Frost A** (1988) Frequency of allergy to *Alternaria* and *Cladosporium* in a specialist clinic. *Allergy*, 43 (7): 504–507.
- [17] **Mitakakis T Z, Clift A and McGee P A** (2001) The effect of local cropping activities and weather on the airborne concentration of allergenic *Alternaria* spores in rural Australia. *Grana*, 40 (4–5): 230–239.
- [18] **Logrieco A, Visconti A and Bottalico A** (1990) Mandarin fruit rot caused by *Alternaria alternata* and associated mycotoxins. *Plant Disease*, 74 (6): 415–417.
- [19] **Vailes L, Sridhara S, Cromwell O, Weber B, Breitenbach M and Chapman M** (2001) Quantitation of the major fungal allergens, Alt a 1 and Asp f 1, in commercial allergenic products. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 107 (4): 641–646. doi:10.1067/mai.2001.114118.
- [20] **Bush R K and Prochnau J J** (2004) *Alternaria*-induced asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 113 (2): 227–234. doi:10.1016/j.jaci.2003.11.023.
- [21] **Kilic M, Ufuk Altintas D, Yilmaz M, Güneşer Kendirli S, Bingöl Karakoc G, Taskin E, Ceter T and Pinar N M** (2010) The effects of meteorological factors and *Alternaria* spore concentrations on children sensitised to *Alternaria*. *Allergologia et Immunopathologia*, 38 (3): 122–128. doi:10.1016/j.aller.2009.09.006.
- [22] **Bavbek S, Erkeköl F Ö, Çeter T, Mungan D, Özer F, Pinar M and Misirligil Z** (2006) Sensitization to *Alternaria* and *Cladosporium* in Patients with Respiratory Allergy and Outdoor Counts of Mold Spores in Ankara Atmosphere, Turkey. *Journal of Asthma*, 43 (6): 421–426. doi:10.1080/02770900600710706.
- [23] **Downs S H, Mitakakis T Z, Marks G B, Car N G, Belousova E G, Leuppi J D, Xuan W E I, Downie S R, Tobias A and Peat J K** (2001) Clinical importance of *Alternaria* exposure in children. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 164 (3): 455–459.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [24] **Targonski P V, Persky V W and Ramekrishnan V** (1995) Effect of environmental molds on risk of death from asthma during the pollen season. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 95 (5): 955–961.
- [25] **Tham R, Vicendese D, Dharmage S C, Hyndman R J, Newbiggin E, Lewis E, O’Sullivan M, Lowe A J, Taylor P and Bardin P** (2017) Associations between outdoor fungal spores and childhood and adolescent asthma hospitalizations. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 139 (4): 1140-1147. e4.
- [26] **Aydin S, Hardal U and Atli H** (2009) An analysis of skin prick test reactions in allergic rhinitis patients in Istanbul, Turkey. *Asian Pacific journal of allergy and immunology*, 27 (1): 19.
- [27] **Özdemir Ö and Elmas B** (2017) Küf Mantarı Allerjisi ve İmmünoterapi. *Asthma Allergy Immunology*, 15 (2): 61-72.
- [28] **McGrath J J, Wong W C, Cooley J D and Straus D C** (1999) Continually measured fungal profiles in sick building syndrome. *Current microbiology*, 38 (1): 33–36.
- [29] **Kustrzeba-Wójcicka I, Siwak E, Terlecki G, Wolańczyk-Mędrala A and Mędrala W** (2014) *Alternaria alternata* and its allergens: a comprehensive review. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 47 (3): 354–365.
- [30] **Cramer R A and Lawrence C B** (2004) Identification of *Alternaria brassicicola* genes expressed in planta during pathogenesis of *Arabidopsis thaliana*. *Fungal Genetics and Biology*, 41 (2): 115–128.
- [31] **Chruszcz M, Chapman M D, Osinski T, Solberg R, Demas M, Porebski P J, Majorek K A, Pomés A and Minor W** (2012) *Alternaria alternata* allergen Alt a 1: A unique β -barrel protein dimer found exclusively in fungi. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 130 (1): 241-247.e9. doi:10.1016/j.jaci.2012.03.047.
- [32] **Asturias J A, Ibarrola I, Ferrer A, Andreu C, López-Pascual E, Quiralte J, Florido F and Martínez A** (2005) Diagnosis of *Alternaria alternata* sensitization with natural and recombinant Alt a 1 allergens. *Journal of allergy and clinical immunology*, 115 (6): 1210–1217.
- [33] **Grewling L, Nowak M, Szymańska A, Kostecki L and Bogawski P** (2019) Temporal variability in the allergenicity of airborne *Alternaria* spores. *Medical Mycology*, 57(4): 403-411.
- [34] **Twaroch T E, Arcalís E, Sterflinger K, Stöger E, Swoboda I and Valenta R** (2012) Predominant localization of the major *Alternaria* allergen Alt a 1 in the cell wall of airborne spores. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 129 (4): 1148–1149.
- [35] **Biçakçı A, Altunoğlu M K, Bilişik A, Çelenk S, Canitez Y, Malyer H and Sapan N** (2009) Türkiye’nin atmosferik polenleri. *Asthma Allergy Immunology/Astim Allerji Immunoloji*, 7 (1): .

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [36] **Soffer N, Green B J, Acosta L, Divjan A, Sobek E, Lemons A R, Rundle A G, Jacobson J S, Goldstein I F and Miller R L** (2018) Alternaria is associated with asthma symptoms and exhaled NO among NYC children. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 142 (4): 1366-1368. e10.
- [37] **Çeter T and Pinar N M** (2009) Türkiye’de yapılan atmosferik fungus spor çalışmaları ve kullanılan yöntemler. *Asthma Allergy Immunology/Astim Allerji Immunoloji*, 7 (1): .
- [38] **Özkaragöz K** (1969) Ankara atmosferindeki önemli allerjenik mantar sporları ve bunların çeşitli semtlere göre değişimleri. *Hacettepe Tıp Cemiyeti Bülteni 1969*; 2: 85, 97: .
- [39] **Okuyan M, Aksöz N and Varan A** (1976) The fungal flora of Ankara air in January 1972 and 1974 and its relationship to allergic diseases. *Mikrobiyoloji bulteni*, 10 (3): 351–359.
- [40] **Ayata C, Coşkun Ş and Okyay T** (1989) yılında aylara göre İzmir ili’nin çeşitli semtlerinde havanın fungal florası ve bunun alerjik hastalıklar yönünden önemi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 21: 219–226.
- [41] **Ulutan F, Çopur S, and Koçoğlu T** (1985) Çarşamba Kızılot sağlık ocağına bağlı köylerde havanın fungal florası. *Mikrobiyol Bul*, 19: 139–43.
- [42] **Çolakoglu G** (1996) Fungal spore concentrations in the atmosph at the Anatolia quarter of Istanbul, Turkey. *Journal of basic microbiology*, 36 (3): 155–162.
- [43] **Ali İ and Pehlivan S** (1990) Serik (Antalya) Havaasının Alerjenik Polenleri ile İlgili Bir Araştırma. *Gazi Medical Journal*, 1 (1): 35-40.
- [44] **Altın R, Çelik A and Öztürk S** (1998) Çankırı atmosferindeki Cladosporium ve Alternaria sporlarının saptanması. *VIII. Ulusal Alerji ve Klinik İmmunoloji Kongresi*, İzmir.
- [45] **Alan Ş and Kaplan A** (2004) Zonguldak ili atmosferinin polen ve spor analizi (2003-2004) *Yüksek Lisans Tezi*. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak, 93 s.
- [46] **Özdoğan Y and Kaplan A** (2008). Karabük İl Merkezi Atmosferinin Polen ve Spor Analizi. *Yüksek Lisans Tezi*. ZKÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak, 70 s.
- [47] **Serbes A B and Kaplan A** (2008) Düzce il merkezi 2006 yılı polen ve spor analizi. 19. *Ulusal Biyoloji Kongresi, Trabzon*, 383: .
- [48] **Şakıyan N and İnceoğlu Ö** Ankara havasında bulunan Cladosporium ve Alternaria sporlarının konsantrasyonu ve bu konsantrasyona meteorolojik faktörlerin etkisi (1990-1991). *Ulusal Palinoloji Kongresi, İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Orman Botaniği Anabilim Dalı*, İstanbul 1995: 131, 33:

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [49] **Ceylan T and İnceoğlu Ö** (1996) Ankara havasında bulunan *Cladosporium* ve *Alternaria* sporlarının konsantrasyonu ve bu konsantrasyona meteorolojik faktörlerin etkisi (1992-1993), *Yüksek Lisans Tezi*. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 60 s.
- [50] **Çeter T and Pınar N M** (2004) Ankara havasında bulunan fungus sporlarının cinsleri ve bunların meteorolojik faktörlerle değişimi (2003-2004)[Tez]. *Ankara: Ankara Üniversitesi*.
- [51] **Çeter T and Pınar N M** (2008) Kastamonu ili (Merkez) atmosferi polen ve sporları ve bunların meteorolojik faktörlerle değişimi (Ocak 2006-Aralık 2007) *Doktora Tezi*. Ankara Üniversitesi, , Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 259 s.
- [52] **Beyoğlu S** (2006) *Cladosporium Link* ve *Alternaria Nees ex Wallroth* sporlarının Adana atmosferindeki miktarları ve meteorolojik faktörlerin spor miktarı üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi. *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.
- [53] **Bursalı B and Doğan C** (2007) Diyarbakır ili atmosferik polen ve sporlarının araştırılması. *Doktora Tezi*, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 185 s.
- [54] **Rodríguez-Rajo F J, Iglesias I and Victoria J** (2005) Variation assessment of airborne *Alternaria* and *Cladosporium* spores at different bioclimatical conditions. *Mycological research*, 109 (4): 497–507.
- [55] **Alan Ş, Şahin A A, Sarışahin T, Şahin S, Kaplan A and Pınar N M** (2018) The effect of geographical and climatic properties on grass pollen and Phl p 5 allergen release. *International Journal of Biometeorology*, 1–13.
- [56] **Keçeli T** (2004) Batı Karadeniz Bölgesi (Bolu-Zonguldak-Bartın-Kastamonu) Ciğerotları (Hepaticae) Florası. *Doktora Tezi*, .
- [57] **Alataş M, Ezer T, Kara R and Batan N** (2015) Beldibi ve Babadağ Ormanlarının Epifitik Briyofitleri (Zonguldak, Türkiye). *Anatolian Bryology*, 1 (1): 10–17.
- [58] **Akman Y** (1999) *İklim ve biyoiklim, biyoiklim metodları ve Türkiye iklimleri*. Ankara. Palme Press, Ankara, 345 s.
- [59] **Buters J T, Thibaudon M, Smith M, Kennedy R, Rantio-Lehtimäki A, Albertini R, Reese G, Weber B, Galan C and Brandao R** (2012) Release of Bet v 1 from birch pollen from 5 European countries. Results from the HIALINE study. *Atmospheric Environment*, 55: 496–505.
- [60] **Alan Ş, Sarışahin T, Şahin A A, Kaplan A and Pınar N M** (2019) An assessment of ragweed pollen and allergen loads in an uninvaded area in the Western Black Sea region of Turkey. *Aerobiologia*, 1–13.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [61] **Del Mar Trigo M, Toro F J, Recio M and Cabezudo B** (2000) A statistical approach to comparing the results from different aerobiological stations. *Grana*, 39 (5): 252–258.
- [62] **Virtanen P, Gommers R, Oliphant T E, Haberland M, Reddy T, Cournapeau D, Burovski E, Peterson P, Weckesser W and Bright J** (2019) SciPy 1.0--fundamental algorithms for scientific computing in Python. *ArXiv Preprint ArXiv:1907.10121*, .
- [63] **Team R C** (2013) R: A language and environment for statistical computing.
- [64] **Humbal C, Gautam S, Joshi S K, and Rajput M S** (2020) Spatial Variation of Airborne Allergenic Fungal Spores in the Ambient PM_{2.5}—A Study in Rajkot City, Western Part of India. *Measurement, Analysis and Remediation of Environmental Pollutants*, T. Gupta, S.P. Singh, P. Rajput, A.K. Agarwal (Eds.), ISBN: 9789811505409, Springer, Singapore, : pp. 199–209. doi:10.1007/978-981-15-0540-9_10.
- [65] **Ozdogan Y and Kaplan A** (2011), Zonguldak il merkezi atmosferinde bulunan biyolojik partiküllerin volumetrik yöntemle incelenmesi., *Doktora Tezi*, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilimdalı, 125s.
- [66] **Erkara I P, Asan A, Yilmaz V, Pehlivan S and Okten S S** (2007) Airborne Alternaria and Cladosporium species and relationship with meteorological conditions in Eskisehir City, Turkey. *Environ Monit Assess*, 144 (1): 31. doi:10.1007/s10661-007-9939-0.
- [67] **Akgül H, Yilmazkaya D, Akata I, Tosunoğlu A and Bıçakçı A** (2016) Determination of airborne fungal spores of Gaziantep (SE Turkey). *Aerobiologia*, 32 (3): 441–452. doi:10.1007/s10453-015-9417-z.
- [68] **Olsen Y, Skjøth C A, Hertel O, Rasmussen K, Sigsgaard T and Gosewinkel U** (2019) Airborne Cladosporium and Alternaria spore concentrations through 26 years in Copenhagen, Denmark. *Aerobiologia*, . doi:10.1007/s10453-019-09618-7.
- [69] First fungal spore calendar for the atmosphere of Bratislava, Slovakia | SpringerLink. . <https://link.springer.com/article/10.1007/s10453-019-09564-4> (accessed February 25, 2020).

ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Zonguldak'ta doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Zonguldak'ta tamamladı. 1995-1997 yılları arasında Gazi üniversitesi S.H.M.Y.O. Tıbbi Laboratuvar bölümünde Ön lisans, 2010-2013 yılları arasında Z.B.E.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde lisans eğitimini tamamladı. 2 adet SCI Expanded uluslararası yayını bulunmaktadır. 1999 yılından beri Z.B.E.Ü. Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezinde İmmünoloji Laboratuvarında görev yapmakta olup, evli ve bir çocuk annesidir.

İLETİŞİM BİLGİLERİ:

E-posta: nergissevinc@yahoo.com