



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KERATOKONJONKTİVİT ÖN TANILI HASTALARDAN
İZOLE EDİLEN ADENOVİRÜS SUŞLARININ ALT
TİPLENDİRİLMESİ**

AYFER GÜNER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. AYŞEGÜL KARAHASAN

İSTANBUL

2020

TEZ ONAY FORMU

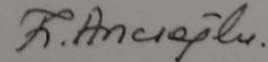
Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program türü : Yüksek Lisans
Anabilim Dalı : Tıbbi Mikrobiyoloji
Tez Sahibi : Ayfer Güner
Sınav Tarihi ve Saati : 14/02/2020 13:00
Tez Başlığı : Keratokonjonktivit Ön Tanılı Hastalardan İzole Edilen Adenovirüs Suşlarının Alt Tiplendirilmesi

Bu çalışma, içerik ve kalite bakımından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Ünvan, Adı-Soyadı (Kurum adı)	İmza
Danışman	Prof. Dr. Ayşegül KARAHASAN Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	
Üye	Prof. Dr. Z. Arzu İLKİ Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	
Üye	Prof. Dr. Mustafa ÖZYURT Demiroğlu Bilim Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	

ONAY

Bu tez, yukarıda isimleri bulunan jüri üyeleri tarafından "Marmara Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği" nin ilgili maddeleri uyarınca kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun 05.03.2020 tarih ve 125 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

AYFER GÜNER

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince, her konuda bana yardımcı ve yol gösterici olan, bilgi ve deneyimlerinden yararlanarak akademik yönümün gelişmesinde büyük katkısı bulunan değerli öğretmenim ve tez danışmanım Prof. Dr. Ayşegül KARAHASAN'a sabrı, sevgisi ve hoşgörüsünden dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim sırasında karşılaştığım sorunların üstesinden gelmemde desteğini esirgemeyen değerli hocam Uzm. Dr. Rabia Can SARINOĞLU'na, yüksek lisans öğrenimim esnasında değerli bilgilerini benimle paylaşan Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Zeynep Arzu İLKİ'ye, Prof. Dr. Münevver Ufuk HASDEMİR'e, Prof. Dr. Nurver ÜLGER'e, Prof. Dr. Nilgün ÇERİKÇİOĞLU'na, Yrd. Doç. Dr. Burak AKSU'ya ve Arş. Gör. Deniz GÜNEŞER'e en içten dileklerle teşekkür ederim.

Tez çalışma sürecim boyunca katkılarından dolayı Dr. Fahri Onur AYDIN'a, Prof. Dr. Ayşe Ebru TOKER'e ve Uzm. Dr. Semra AKKAYA TURHAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında desteklerini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Betül Esra İPEK'e, Sinem SEZEN'e, Şura ŞALCI'ya, Semra EMİNOĞLU'na, Sümeyye BORLAK'a ve Bermal TEKEŞ'e teşekkürü borç bilirim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi gösterdikleri sonsuz sevgi ve fedakarlıkları için sevgili annem Nilüfer GÜNER'e, sevgili babam Ayhan GÜNER'e ve canım kardeşim Onur GÜNER'e şükranlarımı sunarım.

Bu tez, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından SAG-C-YLP-130319-0095 numaralı proje tarafından desteklenmiştir.

AYFER GÜNER

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	i
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMA VE SİMGELER.....	vi
ŞEKİL, RESİM VE TABLO LİSTESİ.....	viii
ÖZET.....	1
SUMMARY.....	2
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Tarihçe.....	4
2.2. Sınıflandırma.....	4
2.3. Yapısal Özellikler.....	5
2.4. Replikasyon Mekanizması.....	6
2.5. Adenovirüsün Neden Olduğu Hastalıklar.....	7
2.5.1. Göz Enfeksiyonları.....	8
2.5.1.1. Spesifik Olmayan Foliküler Konjonktivit.....	8
2.5.1.2. Faringokonjonktival Ateş.....	9
2.5.1.3. Epidemik Keratokonjonktivit.....	9
2.5.2. Solunum Sistemi Enfeksiyonları.....	10
2.5.3. Gastrointestinal Sistem Enfeksiyonları.....	10
2.5.4. Genitoüriner Sistem Enfeksiyonları.....	10
2.6. Adenovirüs Epidemiyolojisi	13

2.7. Adenovirüslerin Laboratuvar Tanısı.....	12
2.7.1. Örneklerin Toplanması ve Saklama Koşulları.....	12
2.7.2. Mikrobiyolojik Tanısı.....	12
2.7.2.1. Direkt İnceleme	13
2.7.2.1.1. Viral Partikül Tayini.....	13
2.7.2.1.2. Antijen Tayini.....	14
2.7.2.1.3. Moleküler Yöntemler.....	14
2.7.2.2. Virüs İzolasyonu.....	16
2.7.2.3. Serolojik Yöntemler.....	17
2.7.2.4. Tip Tayini.....	17
2.7.2.4.1. Nötralizasyon Testi.....	17
2.7.2.4.2. Hemaglutinasyon ve Hemaglutinasyon İnhibisyon Testi...17	
2.7.2.4.3. Restriksiyon Enzim Analizi.....	18
2.7.2.4.4. Nükleotit Dizi Analizi.....	18
2.8. Adenovirüs Enfeksiyonlarından Korunma ve Tedavi.....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	21
3.1. GEREÇ.....	21
3.1.1. Kullanılan Besiyerleri.....	21
3.1.2. Kimyasal Maddeler.....	21
3.1.3. Kullanılan Ticari Kitler.....	21
3.1.4. Kullanılan Cihazlar.....	22
3.2. YÖNTEM.....	23
3.2.1. Konjonktival Sürüntü Örneklerin Toplanması.....	23

3.2.2. Viral Konjonktivit Olgularında Hızlı Tanı Kiti ile Antijen Tayini.....	24
3.2.3. Dezenfeksiyon Etkinliğinin Değerlendirilmesi İçin Çevresel Sürüntü Örneklerinin Toplanması.....	26
3.2.4. Nükleik Asit Ekstrasyonu ve Adenovirüs DNA'sının Kantitasyonu...26	
3.2.5. PCR.....	28
3.2.6. PCR Ürünlerinin Jel Elektrofrezisi ile Görüntülenmesi.....	29
3.2.7. PCR Reaksiyonu Pürifikasyonu.....	30
3.2.8. Sekans Reaksiyonu.....	30
3.2.9. Sekans Örnekleri Pürifikasyonu.....	31
3.2.10. Kapiller Elektrofrezde Dizileme Aşamaları.....	32
3.2.11. Sonuçların Kontrol Edilmesi.....	32
3.2.12. Sekans Analizinin Yorumlanması.....	32
4. BULGULAR.....	33
4.1. Konjonktival Sürüntü Örneklerinde Hızlı Tanı Testi ve Kantitatif Gerçek Zamanlı PCR Sonuçları.....	33
4.2. Çevreden Alınan Sürüntü Örneklerinde Kantitatif Gerçek Zamanlı PCR Sonuçları.....	35
4.3. Sekans Sonuçları.....	37
5. TARTIŞMA-SONUÇ.....	41
6. KAYNAKÇA.....	47
EKLER.....	58
EK 1. ETİK KURUL ONAY FORMU.....	58
EK 2. SÖZLÜ SUNUM.....	59
EK 3. POSTER BİLDİRİSİ.....	60
EK 3. ÖZGEÇMİŞ.....	61

KISALTMA VE SİMGELER

CAR: Cocksackie Adenovirus Reseptör

CPE: Sitopatik Etki

DFA: Direkt Floresan Antikor

Dk: Dakika

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

EIA: Enzim İmmunoassay

EKK: Epidemik Keratokonjonktivit

EM: Elektron Mikroskopisi

FKA: Faringokonjonktival Ateş

IC: İmmunokromatografi

IEM: İmmun Elektron Mikroskopisi

IF: İmmunfloresan

hADV: Human Adenovirus

HAI: Hemaglutinasyon İnhibisyon Testi

HEK: İnsan embriyonik böbrek hücre kültürü

HeLa: İnsan servikal kanser hücreleri

HEp-2: İnsan epidermoid karsinom hücre kültürü

HVR: Hypervariable Region

Kb: Kilobaz

KBD: Kompleman Birleştirme Deneyi

mRNA: Mesajcı ribonükleik asit

nm: nanometre

PCR: Polymerase Chain Reaction- Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PFGE: Pulse Field Gel Electrophoresis

RE: Restriksiyon Endonükleazlar

RFLP: Restriksiyon Fragment Length Polymorphism

RNA: Ribonükleik asit

UV: Ultraviyole



ŞEKİL, RESİM ve TABLO LİSTESİ

Şekil 1. Adenovirüslerin yapısı.....	5
Şekil 2. Adenovirüslerin hücre içine giriş ve replikasyonu.....	7
Şekil 3. İmmun elektron mikroskopi ile insan gözyaşında adenovirüs.....	13
Şekil 4. Sentetik bir biçimde ELITe MGB® teknoloji probunun aktivasyonu ve floresans emisyon mekanizması.....	27
Şekil 5. Örneklerin yıllara ve aylara göre dağılımı.....	37
Şekil 6. Saptanan adenovirüs genotiplerinin toplam sayıları.....	37
Şekil 7. 2018 yılına ait suşların filogenetik ağaçta gösterilmesi.....	39
Şekil 8. 2019 yılına ait suşların filogenetik ağaçta gösterilmesi.....	40
Resim 1. UTM® (Copan Diagnostic, İtalya).....	23
Resim 2. AdenoPlus™ Test Aleti.....	24
Resim 3. AdenoPlus™ Test Aleti ile Örnek Alımı.....	24
Resim 4. AdenoPlus™ Testi Sonuç Okuma.....	25
Resim 5. ELITe InGenius®- ELITechGroup.....	28
Resim 6. ABI PRISM®3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA).....	32
Tablo 1: PCR’da kullanılan primerler.....	28
Tablo 2: PCR Bileşenleri ve Reaksiyon Başına Miktarları.....	29
Tablo 3: PCR Reaksiyon Döngüsü.....	29
Tablo 4. PCR Pürifikasyon Reaksiyonu Bileşenleri ve Reaksiyon Başına Miktarları.....	30
Tablo 5. PCR Pürifikasyon Reaksiyonu Döngüsü.....	30
Tablo 6. Sekans Reaksiyon İçeriği.....	31

Tablo 7. Sekans Reaksiyon Döngüsü.....	31
Tablo 8. Konjonktival Sürüntü Örneklerinde Hızlı Tanı Testi ve Kantitatif Gerçek Zamanlı PCR Sonuçları.....	33
Tablo 9. Çevresel sürüntü örneklerinin alındığı yerler ve kantitatif gerçek zamanlı PCR ile hADV varlığı sonuçları.....	36
Tablo 10. Saptanan genotiplerin yıllara göre dağılımı.....	38



ÖZET

Keratokonjunktivit Ön Tanılı Hastalardan İzole Edilen Adenovirüs Suşlarının Alt Tiplendirilmesi

Ayfer Güner, Ayşegül Karahasan, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

AMAÇ: Bu çalışmanın amacı klinik olarak keratokonjunktivit ön tanılı hastalardan alınan konjunktival sürüntü örneklerinde insan adenovirüsü (hAdV) varlığını araştırmak ve alt tiplerini belirlemektir.

GEREÇ ve YÖNTEM: Ocak 2018 ve Kasım 2019 tarihleri arasında, AdenoPlus™ (Rapid Pathogen Screening Inc., ABD) hızlı tanı kiti ile pozitif sonuç veren keratokonjunktivit ön tanılı 82 hasta çalışmaya dahil edildi. Nükleik asit ekstraksiyonu ve kantitasyonu, kantitatif gerçek zamanlı PCR yöntemi kullanılarak ELITE InGenius (ELITechGroup, İtalya) cihazı ile gerçekleştirildi. DNA dizi analizi ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA) cihazı ile yapıldı. Elde edilen hADV DNA dizileri BLAST analizi ile tiplendirildi ve genotipler NCBI'nin referans hADV dizileri kullanılarak tanımlandı.

Oftalmoloji polikliniğinde uygulanan dezenfeksiyon etkinliğini değerlendirmek ve farkındalığı arttırmak amacıyla çevresel sürüntü örnekleri alarak adenovirüsün varlığı araştırıldı.

BULGULAR: Keratokonjunktivit ön tanılı 82 hastada hADV pozitifliği doğrulandı. Hekzon geni pozitif 72 örnekte üç genotip tanımlandı: hAdV-8 (n: 69, %95.8), hAdV-4 (n: 2, % 2.8), hAdV-19 (n: 1, % 1.4). Viral yük ortanca değeri 7,1 log 10 kopya / mL (4,7-7,4) saptandı. Filogenetik ağaçta baskın genetik yakınlık gözlemlenmedi. Çevresel örneklerde dezenfeksiyon sonrasında dahi hADV pozitifliği saptandı.

SONUÇLAR: Çalışmamız oküler enfeksiyonlarda adenovirüslerin genotiplendirilmesine yönelik ilimiz ve bölgemizde yapılan ilk çalışmadır ve bulgularımız ilgili ulusal moleküler epidemiyolojik verilere katkıda bulunacaktır.

ANAHTAR KELİMELER: Keratokonjunktivit, adenovirüs, genotiplendirme

SUMMARY

Subtyping of Adenovirus Strains Isolated from Patients Pre-Diagnosed with Keratoconjunctivitis

Ayfer Güner, Ayşegül Karahasan, Department of Microbiology.

AIM: The aim of this study was to investigate the presence and determine the subtypes of human adenovirus (hAdV) in conjunctival swab samples taken from patients clinically pre-diagnosed as keratoconjunctivitis.

MATERIALS/METHODS: Between January 2018 and November 2019, 82 patients with pre-diagnosed keratoconjunctivitis who had positive results with the AdenoPlus™ (Rapid Pathogen Screening Inc., USA) rapid diagnostic kit were included in the study. The nucleic acid extraction and quantitation were performed by ELITE InGenius® (ELITechGroup, Italy) instrument using quantitative real-time PCR method. DNA sequence analysis was performed with ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA). The obtained hAdV DNA sequences were typed by BLAST analysis and the genotypes were identified by using the reference hAdV sequences of the NCBI.

In order to evaluate the disinfection effectiveness applied in the ophthalmology outpatient clinic and to raise awareness, we investigated the presence of adenovirus by taking environmental swab samples.

RESULTS: hADV positivity was confirmed in 82 patients with pre-diagnosis of keratoconjunctivitis. Three genotypes were identified from 72 hexon gene positive samples: hAdV-8 (n: 69, 95.8%), hAdV-4 (n: 2, 2.8%), hAdV-19 (n: 1, 1.4%). The median viral load was 7,1 log₁₀ copies/mL (4,7- 7,4). No predominant genetic relation was observed from the phylogenetic tree. hADV positivity was detected even after disinfection procedures in environmental samples.

CONCLUSIONS: Our study is the first study in our province and region for the genotyping of adenoviruses in ocular infections, and our findings will contribute to relevant national molecular epidemiological data.

KEY WORDS: Keratoconjunctivitis, adenovirus, genotyping

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Adenovirüsler tüm dünyada viral göz enfeksiyonlarında en sık rastlanan etkenlerdir ve spesifik olmayan foliküler konjonktivit, faringokonjonktival ateş (FKA), epidemik keratokonjonktivit (EKK) olmak üzere üç klinik formu bulunmaktadır. Adenovirüslerin tropizm gösterdiği dokular oldukça geniştir ve sebep olduğu hastalıkların klinik seyri ve bulguları virüsün alt tipine göre değişmektedir.

Adenovirüslerin etken olduğu göz enfeksiyonları oldukça bulaşıcıdır ve hastanede meydana getirdiği salgınların atak hızı %25'i bulabilmektedir (Rutala WA ve ark., 2006). Bu nedenle adenovirüs enfeksiyonlarının hızlı bir şekilde tanınması ve oluşabilecek salgınlara karşı gerekli enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması hem toplum sağlığı hem de hastane enfeksiyonları açısından oldukça önemlidir.

Epidemiyolojik çalışmalar, toplumda dolaşan adenovirüslerin genotiplerinin belirlenmesi ve salgınların mevsimsel özelliklerinin saptanmasına ilişkin bilgi sağlayarak oluşabilecek salgınların engellenmesine yardımcı olmaktadır. Adenoviral keratokonjonktivitlerin alt tiplendirilmesi konusunda birçok ülkeden çok sayıda yayın olmakla birlikte ülkemiz ile ilgili veriler oldukça sınırlıdır.

Bu çalışmada, 2018-2019 yılları arasında, Marmara Üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesi'ne başvuran ve klinik olarak adenoviral keratokonjonktivit ön tanısı alan hastalara ait konjonktival sürüntü örneklerinde adenovirüs genotiplerinin saptanması ve ülkemizde yapılacak olan yeni epidemiyolojik çalışmalara ışık tutulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Adenovirüsler ilk kez 1953 yılında, Rowe ve arkadaşlarının çocuk adenoidlerinde poliovirüslerin araştırılması üzerine yapılan bir çalışma sırasında tanımlanmıştır. Araştırmacılar poliovirüsün bulunmadığı bir dokuda sitopatik değişiklikler meydana getiren ve kültürlerin spontan dejenerasyonunu stimüle eden uyarıyı “adenoid dejenerasyon ajanı” olarak isimlendirmişlerdir (Rowe WP ve ark., 1953). İkinci olarak 1954 yılında Hilleman ve Werner isimli araştırmacılar, bir askeri birlikte meydana gelen primer atipik pnömoni salgını sırasında askerlerin boğaz çalkantı sularında benzer bir etkene rastlamışlardır ve bu etkeni “R1-67” olarak adlandırmışlardır (Hilleman MR ve Werner JH, 1954). Sonraki yıllarda bu iki virüsün birbirleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur. 1956 yılında, virüsler ilk kez adenoid dokudan elde edildiği için kaynağını belirtmek adına adenovirüs ismini almıştır (Enders JF ve ark., 1956).

2.2. Sınıflandırma

İnsan adenovirüsü (Human Adenovirus; hADV) *Adenoviridae* ailesi içerisinde *Mastadenovirüs* cinsi içerisinde bulunur. *Mastadenovirüs* cinsi adını köken olarak Latince mastos (meme) kelimesinden alır ve memelileri enfekte eden virüslerden oluşur (Echavarria M, 2008).

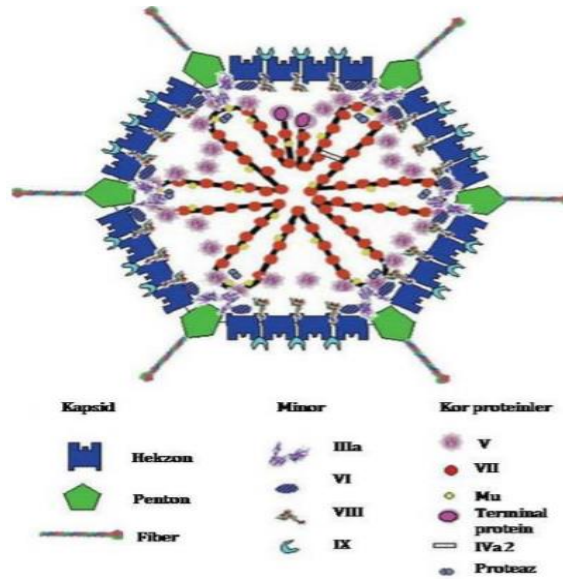
hADV; nükleotid dizi analizleri ve kompozisyonları, genom büyüklüğü, filogenetik farklılıklar, rekombinasyon yeteneği, onkojenik özellikleri, konak duyarlılığı, hemagglütinasyon ve nötralizasyon özellikleri gibi farklılıklar göz önünde bulundurularak yedi gruba (A-G) ayrılmıştır. Bu gruplar içerisinde genomik ve biyoinformatik çalışmalar sonucunda 50’den fazla serotip tanımlanmıştır (Buckwalter SP ve ark., 2012; Jhanji V ve ark., 2015).

2.3. Yapısal Özellikler

Adenovirüsler 70-90 nanometre (nm) çapında, zarfsız, ikozahedral yapıda, lineer çift zincirli deoksiribonükleik asit (DNA) içeren virüslerdir (Echavarria M, 2008).

Adenovirüslerin protein kapsid kılıfı 252 kapsomerden oluşur. Kapsomerlerden 12 tanesi kapsidin köşelerinde bulunur ve penton adını alır. Pentonların her biri bir taban ve bu tabana bağlı uzantı şeklinde fiber yapıdan meydana gelir. Pentonlar tüm adenovirüslerin ortak antijenidir ve virüsün hücre kültüründe meydana getirdiği erken sitopatik etkiden sorumludur. Fiber ve penton bazı birlikte konak hücre ile viral kapsid arasındaki etkileşimde rol oynar. Kalan 240 kapsomer yüzeyde bulunur ve hekzon adını alır. Hekzonlar tüm insan adenovirüslerinde ortak antijenik yapıdadır (Willke Topçu A ve ark., 2008; Wold WS ve Toth K, 2013).

Virüsün kor kısmında 6 adet yapısal bileşen mevcuttur. Bunlardan V, VII, Mu, IVa2 ve terminal protein çift zincirli DNA genomu ile ilişkilidir, diğer bileşen proteaz ise virion salınımında görev alır. Kapsid kılıf, bir kısmı kor ile kılıf arasında köprü görevi gören ve küçük kapsid proteinleri olarak adlandırılan IIIa, VI, VIII, IX proteinleri tarafından sağlamlaştırılır (Russell WC, 2009).



Şekil 1. Adenovirüslerin yapısı (Russell WC, 2009)

2.4. Replikasyon Mekanizması

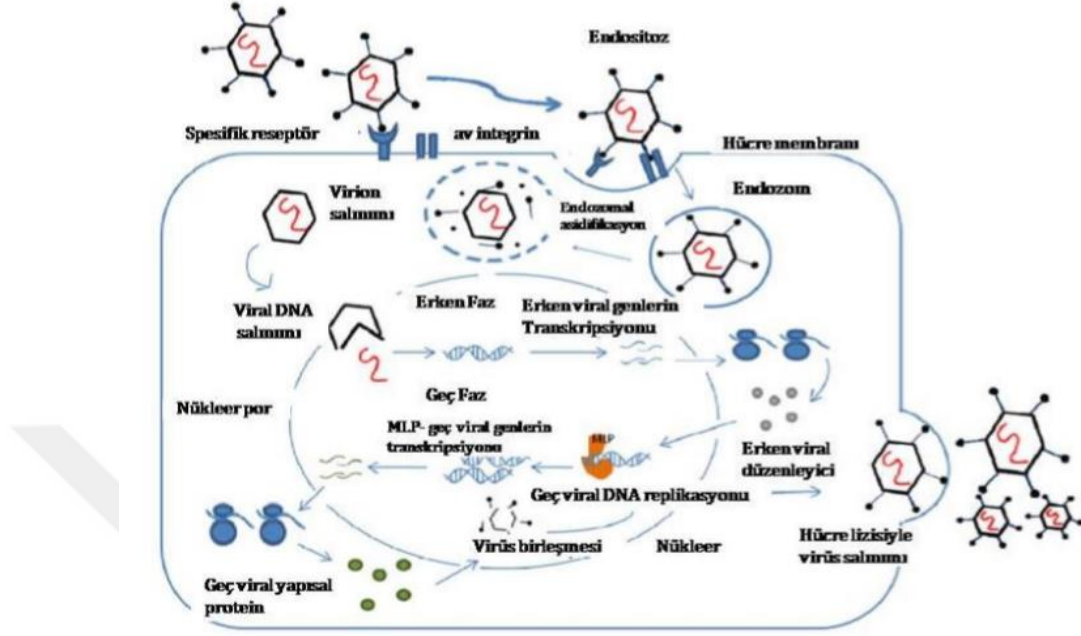
Adenovirüslerin A, C, D, E, F, G grubuna ait serotipler konakçı hücrenin yüzeyine ‘Coxsackie-Adenovirüs Reseptör (CAR)’ aracılığıyla bağlanır. B grubuna ait serotipler ise CD46 reseptörünü kullanırlar (Willke Topçu A ve ark., 2008). Bu reseptörler dışında CD80, CD86, sialik asit, integrinler ve heparan sülfat gibi hücre yüzey moleküllerinin de rolü vardır (Arnberg N, 2009).

Virüsün fiber proteini, konak hücreye yapışmada görev alır. Penton proteinleri ise hücrenin integrinleri ($\alpha\beta3$ ve $\alpha\beta5$) ile etkileşime girerek virüsün endositoz yolu ile hücre içerisine girişinde rol oynar. Virüs endozom içerisinde girdikten sonra soyunma evresi başlar, fiber proteinleri dökülür, pentoz bazları açığa çıkar ve virüs içeren endozom içerisinde pH azalmaya başlar. Endozomun asidifikasyonu sonucu viral kapsid yapısında endozomal lizis oluşur ve virionlar sitoplazma içerisine girer. Viral proteazın aktivitesi ile kapsid soyulur ve adenovirüs genomu mikrotübüller vasıtasıyla nukleusa taşınır (Medina-Kauwe LK, 2003; Zuckerman AJ ve ark., 2009).

Adenovirüs replikasyon siklusu özel viral genlerin eksprese edilme zamanına göre erken ve geç faz olmak üzere ikiye ayrılır. Erken fazda viral DNA replikasyonu, geç fazda ise viral kapsidin yapısal proteinlerinin ekspresyonu gerçekleşir. Geç faz 4-6 saat kadar sürerken, erken faz 6-8 saat gibi nispeten daha uzun sürede tamamlanır (Russell WC, 2000; Lenaerts L ve ark., 2008).

Virüs genomu çekirdek içine bırakıldıktan sonra erken adenovirüs genlerinin (E1-E2-E3-E4) sentezi başlar. E1 bölgesi adenovirüs replikasyonunun başlamasından sorumludur. E1A ribonükleik asit (RNA) sentezi aktivasyonunda, E1B virüsle enfekte hücrelerin apoptoza gitmesini engellemede rol alır. E2 bölgesi DNA polimeraz enzimini kodlar. E3 ve E4 bölgesi ise hücre sinyalinin ve konakçı bağışıklık tepkilerini değiştirmede etkilidir. Viral mesajcı ribonükleik asitlerin (mRNA) sitoplazmada translasyonundan sonra, yapısal proteinler çekirdeğe taşınır ve yeni sentezlenmiş genomik DNA’lar ile bir araya gelerek tüm virüs partikülü

oluşturulur. Progeni virionlar hücre lizisi ile hücre dışına atılır (Montone KT ve ark., 1995; Ison MG, 2006).



Şekil 2. Adenovirüslerin hücre içine giriş ve replikasyonu (Waye M.M.Y ve Sing C.W., 2010)

2.5. Adenovirüsün Neden Olduğu Hastalıklar

Adenovirüsler hücrelerde; litik, latent ve onkojenik enfeksiyonlara neden olabilir. Litik enfeksiyonlarda virüs insan epitel hücrelerinde replikasyon döngüsünü tamamlar. Latent enfeksiyonda virüs bademcik ve adenoid gibi lenfoid dokularda latent olarak kalır ve bu hücrelerden sadece az sayıda virüs salınımı gerçekleşir. Latent enfeksiyonlar yıllarca sürebilir ve immun sistemin baskılandığı durumlarda reaktif olarak hastalığa yol açabilir. Adenoviral enfeksiyonlara karşı immun yanıt; inokülasyon bölgesi, genotip, konağın bağışıklık durumu gibi faktörlere bağlıdır. Onkojenik transformasyonda ise virüs DNA'sının hücre DNA'sına entegrasyonu gerçekleşir. Hücrenin sentezlediği proteinlerin adenovirüse ait olması sonucu tanı alır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda adenovirüslerin onkojenik rolü çeşitli hayvan çalışmalarında gösterilmiş olmasına rağmen

insanlarda adenovirüslerin onkojenik dönüşümünü destekleyen kesin bir kanıt içeren çalışma bulunmamaktadır (Murray PR ve ark., 2009; Jhanji V ve ark., 2015).

Adenovirüs enfeksiyonları; göz, solunum yolu, gastrointestinal sistem, genitouriner sistem enfeksiyonları olarak temelde dört başlık altında toplanabilir (Lebeck MG ve ark., 2009). Genelde asemptomatik seyretmekle birlikte immunsupresif hastalarda fırsatçı enfeksiyonlara da neden olabilir (Buckwalter SP ve ark., 2012).

Adenovirüslerin tropizm gösterdiği dokular oldukça geniştir ve farklı serotipleri farklı doku ve organlara tropizm gösterir. Adenovirüslerin sebep olduğu hastalıkların klinik seyri ve bulguları serotipe ve konağın immun durumuna göre değişir. Genellikle D grubuna ait serotipler göz enfeksiyonuna neden olurken; A ve F grubuna ait serotipler gastrointestinal sisteme; C, E ve bazı B grubuna ait serotipler ise solunum sistemi enfeksiyonuna tropizm göstermektedir (Schmitz H ve ark., 1983; Wilhelmi I ve ark., 2003; Lenaerts L ve ark., 2008).

Adenovirüs enfeksiyonlarını tutulum yerlerine göre incelenirse:

2.5.1. Göz enfeksiyonları

Adenovirüsler tüm dünyada viral göz enfeksiyonlarının en sık rastlanan nedenidir (Romanowski EG ve ark., 2009). Bu enfeksiyonların spesifik olmayan foliküler konjonktivit, faringokonjonktival ateş ve epidemik keratokonjonktivit olarak adlandırılan klinik formları bulunur (Tabbara KF ve ark., 2010). Adenoviral konjonktivit tanısı genellikle klinik bulgulara dayanır (Maranhao AG ve ark., 2009).

2.5.1.1. Spesifik olmayan foliküler konjonktivit

Adenovirüsler hafif seyirliden ciddi klinik tablolara varan hastalıklara sebep olabilir. Belirtilerinde genel olarak; gözde yabancı cisim hissi, fotofobi, konjonktival lenfoid dokuda foliküler reaksiyon gözlemlenir. İleri vakalarda konjonktival hemoraji ve fibrin pseudomembranlar meydana gelebilir (Leppard KN ve ark., 2010). Hastalık genellikle tek taraflı başlayıp birkaç gün içinde çift taraflı hale gelebilir. Bulaşıcılık ortalama iki hafta boyunca devam edebilir (Mueller JB ve McStay CM, 2008). Bulaş sıklıkla kontamine olmuş eller, medikal araçlar veya

solunum yolu damlacıklarıyla gerçekleşir (Mahmood AR ve Narang AT, 2008). Foliküler konjonktivite sıklıkla serotip -1-11 (subgrup B-E) izole edilen etkenlerdir (Adlhock C ve ark., 2010).

2.5.1.2. Faringokonjonktival ateş (FKA)

FKA, özellikle B sub grubuna ait serotip -3'ün etken olduğu bir enfeksiyondur (Kua SC ve ark., 2008). Daha nadir olarak da serotip -2, -4, -7 ve -14 ile de görülebilir (Aoki K ve ark., 2008). Özellikle çocuklarda ve genç erişkinlerde sporadik olarak veya salgınlar halinde ortaya çıkar (Mahmood AR ve Narang AT, 2008).

Bulgularda genel olarak foliküler konjonktivit, ani başlangıçlı ateş, farenjit ve hiperemiye rastlanır (Heerden JV ve ark., 2005). İnkübasyon süresi 5-12 gün sürmekle birlikte semptomlar 3-5 gün devam eder. Genellikle kendini sınırlayan enfeksiyondur. Bulaşın ana kaynağı kontamine sular, su rezervuarları ve yüzme havuzlarıdır (Aronson B ve ark., 1956; Gonzalez-Lopez JJ ve ark., 2013).

2.5.1.3. Epidemik keratokonjonktivit (EKK)

Epidemik keratokonjonktivit, faringokonjonktival ateşe göre çok bulaşıcı ve ciddi bir enfeksiyondur. Özellikle toplu yaşanan yerlerde, her yaş grubunda salgınlara yol açabilir. Epidemik keratokonjonktivit toplum kaynaklı olabileceği gibi nozokomiyal enfeksiyon olarak da karşımıza çıkabilir (Ishiko H ve ark., 2008). Foliküler konjonktivitte gözlenen semptomlara ek olarak göz kapaklarında ödem, küçük peteşiyal hemorajiler ve inflamatuvar pseudomembranlar oluşumu epidemik keratokonjonktivit için karakteristiktir (Mahmood AR ve Narang AT, 2008).

En sık neden olan serotipler -8, -19, -37 iken; -2-5, -7, -9-11, -14, -16, -21 ve -29 da nadir olarak EKK etkenidir. hADV-8, 1959 yılında ilk kez bu hastalığın etkeni olarak tanımlandığından beri epidemik keratokonjonktivite saptanan predominat serotiptir (Chang C ve ark., 2001).

İnkübasyon süresi 2-24 gün arasında sürebilirken; semptomlar 7-21 gün arasında devam edebilir (Ghebremedhin B, 2014). EKK sıklıkla tek taraflı başlayıp %70 oranında çift taraflı hale gelebilir (Gonzalez-Lopez JJ ve ark., 2013).

2.5.2. Solunum sistemi enfeksiyonları

Adenovirüsler solunum yollarında farenjit, tonsillit, laringotrakeabronşit, bronşiolit ve pnömoni gibi farklı klinik tablolara neden olabilir. Özellikle iki yaş altı çocuklardaki bronşiolit ve pnömoni ataklarının çoğunluğunda adenovirüsler sorumludur. İnkübasyon dönemi 2-14 gün arasında değişir. Enfeksiyon kış ve ilkbahar mevsimlerinde artış göstermekle birlikte genellikle yıl boyunca görülür (Faden H ve ark., 2005; Wang W ve ark., 2016).

Adenovirüslerin solunum yolu enfeksiyonları alt solunum yolu enfeksiyonları ve üst solunum yolu enfeksiyonu olarak ikiye ayrılır: Alt solunum yolu enfeksiyonlarına B alt grubu serotipleri, üst solunum yolu enfeksiyonlarına ise C alt grubuna ait serotipler etkindir (Echavarria M, 2009). Tip -3, -7 ve -21 infant ve erken çocukluk döneminde en sık pnömoniyeye sebep olan adenovirüslerdir. Erken çocukluk döneminde tip -1, -2, -5 ve -6 endemiler oluşturur (Xu W ve Erdman DD, 2001).

2.5.3. Gastrointestinal sistem enfeksiyonları

Adenovirüs bebekler ve çocuklardaki viral gastroenteritlerin rotavirüslerden sonra en sık görülen etkindir. En sık etken olan serotipleri 40 ve 41'dir. Bulaş fekal-oral yolla gerçekleşmektedir. Hafif ateş, karın ağrısı ve kusma gibi belirtileri ile birlikte ishal genellikle bol sulu, kansızdır ve lökosit içermemektedir. Semptomlar ortalama 10 gün kadar uzun süre devam edebilir (Suat Biçer S ve ark., 2009; Chhabra P ve ark., 2013).

2.5.4. Genitoüriner sistem enfeksiyonları

Özellikle erkek çocuklarda adenovirüs tip -11 ve -21 sistit etkeni olarak karşımıza çıkar. Ani başlangıçlı hematüri, dizüri ve sık idrara çıkma isteği ile karakterizedir (Echavarria M, 2009).

hADV -2, -19 ve -37 genital lezyonlardan izole edilmiştir. Erkeklerde penil ülser kadınlarda ise servist ve labial ülser şeklinde klinik bulgular görülür. Yaklaşık 4 haftaya kadar sürebilen bu hastalıkta süreç içerisinde cinsel bulaş söz konusudur (Swenson PD ve ark., 1995).

2.6. Adenovirüs Epidemiyolojisi

Adenovirüsler dünyanın her yerinde epidemi, endemi ve sporadik enfeksiyonlar olarak çok sık ve yaygın görülürler. Çocuk kreşleri, yatılı okullar, askeri birlikler ve hastaneler gibi kalabalık yerlerde enfeksiyonun insidansı çok yüksektir (Çakmaklıoğulları E, 2011).

Virüs konjonktiva, solunum yolu, gastrointestinal ve genitoüriner sistem mukozal epitelyal hücrelerine tropizm gösterir. Aynı anda birden fazla sistemi de tutabilir (Ampuero J ve ark., 2012). Bulaş başlıca direkt temas, damlacık yolu, fekal-oral yol, yüzme havuzları, oküler araçlar ve ortak kullanılan eşyalar yoluyla gerçekleşir (Echavarria M, 2009). Özellikle yüzme havuzlarından kaynaklanan enfeksiyonlarda en sık karşılaşılan etken adenovirüslerdir (Van Heerden J ve ark., 2005).

Adenovirüsler, dünya genelindeki tüm konjonktivit olgularının %15-70 temsil ederek konjonktivitin önemli nedenlerinden biri olmuştur (Maranhao AG ve ark., 2009). Adenovirüs etken göz enfeksiyonları oldukça bulaşıcıdır ve hastanelerde meydana getirdiği salgınların atak hızı %25'i bulabilir. Göz muayenesi sırasında daima eldiven kullanılması, muayene sonrası el, cihaz ve yüzeylerin dezenfekte edilmesi gerekmektedir. Ayrıca hastaların ve varsa enfekte salgın personelinin izolasyonu, kişiye özgü tek kullanımlık damlalıkların kullanımı ve gerektiğinde polikliniğin kapatılması gerekir. Adenovirüsler cansız yüzeylerde 30 günü aşkın süreyle enfeksiyöz olarak kalabilir. Bu nedenle cansız yüzeylerin ve oftalmik aletlerin dezenfeksiyonu büyük önem taşır (Rutala WA ve ark., 2006; Meyer-Rüsenberg B ve ark., 2011).

2.7. Adenovirüslerin Laboratuvar Tanısı

2.7.1. Örneklerin toplanması ve saklama koşulları

Adenovirüs enfeksiyonlarında optimal tanı için hastalığın erken döneminde örnek alınması gerekir. Tanıda konjonktival sürüntü, balgam, boğaz yıkama suyu, nazofaringeal aspirat, idrar, beyin omurilik sıvısı, kan ve çeşitli biyopsi örnekleri kullanılır. Belirtilerin ortaya çıkmasıyla beraber virüs salınımı solunum yolu enfeksiyonlarında ortalama 1 hafta iken göz enfeksiyonlarında ortalama 2 hafta sürer (Echavarria M, 2009).

Konjonktival sürüntü örnekleri alt palpebral konjonktivadan alınmalıdır. Örnekler mutlaka serum, antibiyotik, antimikotik, albumin veya jelatin içeren viral transport besiyeri içinde taşınmalıdır ve ideal olarak transport süresi 4 saati aşmamalıdır. Eğer örnekler 24 saat içerisinde işleme alınacaksa +4°C'de saklanabilir. Ancak daha uzun süre bekletilmesi gerekirse -70/-80°C'de muhafaza edilmelidir (Koneman EW ve ark., 2006; Liesegang TJ ve ark., 2010).

Adenovirüsler, zarfsız yapıda olmalarından dolayı farklı ısılardaki çevre koşullarında uzun süre stabil kalabilir. Gastrik salgılara, safra ve pankreatik proteazlara direnç gösterir. Formaldehit, ısı ve çamaşır suyu ile inaktive edilir (Gordon YJ ve ark., 1993; Rutala WA ve ark., 2006).

2.7.2. Mikrobiyolojik tanısı

Adenovirüs tanısında kullanılan yöntemler;

1. Direkt inceleme
 - Viral partikül tayini
 - Antijen tayini
 - Moleküler Yöntemler
2. Virüs izolasyonu
3. Serolojik Yöntemler

4. Tip Tayini

- Nötralizasyon Testi
- Hemaglütinasyon ve Hemaglütinasyon İnhibisyon Testi
- Restriksiyon Enzim Analizi
- Nükleotit Dizi Analizi

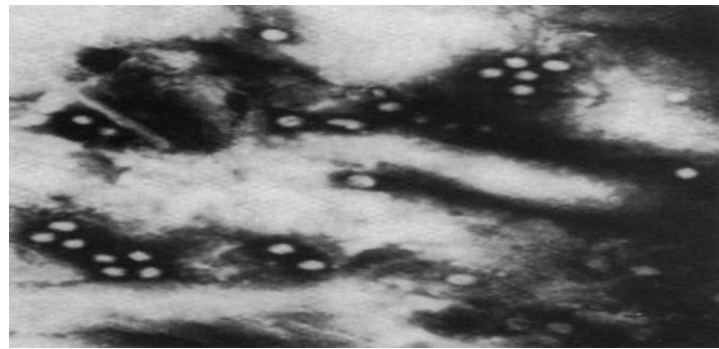
2.7.2.1. Direkt inceleme

2.7.2.1.1. Viral partikül tayini

Viral partikülün gösterilmesi amacıyla kullanılan elektron mikroskopi (EM) yöntemi pahalı ve zahmetlidir. Yöntemin duyarlılığı örnekte bulunan viral partiküllerin sayısına göre değişim göstererek en az 10^5 - 10^6 virüs partikülünün olması gerekir (Ustaçelebi Ş ve Us D, 2008).

Tespit edilmiş doku parçaları ince kesitlere ayrılarak negatif boyanır ve nükleus içerisindeki virüs partiküllerinin kristal dizileri elektron mikroskopisi altında incelenir. Eğer sıvı ise yavaş hızla santrifüjleme ile arındırıldıktan sonra aynı şekilde boyanarak elektron mikroskopisi altında partikül kümeleri incelenir (Hammond GW ve ark., 1981).

EM günümüzde rutinden ziyade sıklıkla belirli referans laboratuvarlarında kullanılır. Bu yöntemin daha hassas ve özgül olan immün elektron mikroskopisi (IEM) teknikleri ile kombine edilirse duyarlılık oranı artırılabilir. Burada örnek daha önce virüsa özgül antiserumla muamele edilir, özgül antikorların virüs partiküllerini agrege etmesiyle daha kolay görünmesi sağlanır (Kojaoghlanian T ve ark., 2003).



Şekil 3. İmmün elektron mikroskopisi ile insan gözyaşında adenovirüs (X45 000)
(Van Rij G ve ark., 1982)

2.7.2.1.2. Antijen tayini

Antijen saptama özellikle solunum yollarının ve gastrointestinal sistemin adenoviral enfeksiyonlarında hızlı ve yeterli düzeyde duyarlı sonuçlar verdiği için kullanılır. Adenovirüs antijeni, immunfloresan (IF) veya enzim immunoassay (EIA) temelli, genellikle ticari olarak elde edilebilen testler kullanılmaktadır (Echavarria M, 2008).

İmmunfloresan özellikle solunum yolu, sürüntü ve biyopsi örnekleri için kullanılmaktadır. Genellikle hekzon proteine karşı monoklonal antikorlar kullanılır. IF solunum örneklerinde adenovirüsleri saptamadaki özgüllüğü yüksektir ama hücre kültürü ile karşılaştırıldığında duyarlılığı %40-60 olarak bulunmuştur. Sitosantrifügasyon yöntemi ile duyarlılık %70-75 düzeylerine çıkartılabilir (Landry ML ve Ferguson D, 2000; Echavarria M, 2009).

Enzim immunoassay yöntemi daha çok enterik adenovirüslerin serotiplerinin tanısında kullanılan hızlı, basit ve maliyet etkin olanıdır. EIA duyarlılığı EM ve hücre kültürü ile karşılaştırıldığında %90'nın üzerindedir ve özgüllüğü ise %97'nin üzerindedir (Kowalski RP ve Gordon YJ, 1989).

Adenoviral göz enfeksiyonlarında kullanılan diğer antijen belirleyici test ise immunokromatografi (IC) yöntemidir. Burada örnek membran strip boyunca lateral olarak göç eder, antijen virüs spesifik antikorlara bağlanır ve dakikalar içinde renkli bir çizginin görüldüğü hızlı bir tanı yöntemidir. Duyarlılığı %60-70 gibi düşük oranlardadır. Bir diğer antijen belirleyici test ise lateks aglütinasyondur. Özellikle gaitada enterik adenovirüslerin tayininde kullanılmaktadır. Düşük duyarlılığa sahip bu testlerde monoklonal antikorlar kullanılması ile duyarlılıkları arttırılmaktadır (Jin X, 2011).

2.7.2.1.3. Moleküler yöntemler

Adenovirüslere bağlı göz enfeksiyonları salgınlara yol açarak maddi-manevi zararlara neden olmaktadır. Bu nedenle hızlı ve duyarlı tanı yöntemlerine ihtiyaç vardır (Wölfel R ve ark., 2006).

Viral genomda hedeflenen gen bölgesinin çoğaltılması esasına dayanan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), adenovirüslerin tanısında en çok tercih edilen

yöntemidir. Hızlı sonuç veren yüksek duyarlılığa sahip bu yöntemde viral yükün az olduğu ve az miktarda örnekle çalışılması gereken durumda dahi kullanılabilir (Rodríguez PH ve Ramirez AG, 2012; Pinto RD ve ark., 2015).

İlk olarak hedef DNA denatüre edilerek tek iplikli hale getirilir. Çoğaltılmak istenilen gen bölgesine spesifik primerleri, Taq DNA polimeraz enzimi sayesinde hedef bölgeye bağlanır ve çift zinciri DNA molekülü oluşur. Sentezlenen her yeni çift zincirli DNA molekülü bir sonraki döngü için kalıp görevindedir. Bu yöntem ile yaklaşık üç amplifikasyon sonucunda tek zincirli DNA moleküllerinden bir milyondan fazla kopya üretilmektedir. Çoğaltılan PCR ürünleri jel elektroforezi, Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) veya sekans analizi gibi işlemlere tabi tutulabilir (Lam WY ve ark., 2007).

Adenoviral enfeksiyonlarının tanısında PCR ve Real-Time PCR temel olarak kullanılan konvansiyonel yöntemlerdir. Her iki yöntemde de serotipler arasında yüksek oranda korunmuş olan hekson geni, fiber geni, viral ilişkili RNAI ve RNAII bölgelerine ait primerler kullanılmaktadır (Echavarria M, 2008).

Yaklaşık 2.9 kb (kilobaz) olan hekson geni, tüm insan adenovirüslerinde ortak antijenik bölgeler ve nötralizan antikorları uyaran tipe özgü bölgeler içerir. Adenovirüslerin tanısında ve tiplendirilmesinde hekson geninin farklı bölgelerini hedef alan universal, tipe-spesifik, tür-spesifik ve kantitatif birçok farklı PCR yöntemi raporlanmıştır (Okada M ve ark., 2007).

Konvansiyonel PCR kantitatif bir yöntemdir ve sonuçları 1-2 gün içerisinde elde edilir. Real Time PCR ise nükleik asit amplifikasyonu ile eş zamanlı olarak artış gösteren floresan sinyalin ölçülmesiyle, elektroforeze gerek kalmadan amplifikasyon sırasında sonuç veren bir yöntemdir. Real-Time PCR amplifiye olmuş ürünlerin en kısa sürede belirlenebildiği, saatler içinde kantitatif sonuç veren yöntem olmasından dolayı daha avantajlıdır (Echavarria M, 2008).

Kullanım şekillerine göre diğer PCR yöntemlerinden Nested PCR, örnekte tek bir hedef DNA molekülü bulunsa bile iki aşamalı amplifikasyonla çok sayıda DNA elde edilmesini sağlar. Multipleks PCR'da ise farklı hedef bölgeler için özgü

primerler kullanılarak çok sayıda hedef aynı anda çoğaltabilir (Rodríguez PH ve Ramirez AG, 2012).

2.7.2.2. Virüs izolasyonu

Hücre kültüründe izolasyon virüs üzerindeki daha detaylı çalışmaların yapılabilmesine olanak sağlar ve adenovirüslerin tanısında standart olarak kabul edilir. Virüsün izolasyonu için örnekler enfeksiyonun görüldüğü bölgeden, hastalığın erken döneminde alınmalıdır (Percivalle E ve ark., 2003; Murray PR ve ark., 2009).

Hücre kültüründe üretilmesi zor olan enterik virüsler (tip 40 ve 41) dışında adenovirüsler primer insan embriyonik böbrek hücre kültürü (HEK), insan servikal kanser hücreleri (HeLa), insan epidermoid karsinom hücre kültürü (HEp-2), insan embriyonik akciğer fibroblastlarda ve diğer embriyonik fibroblastik hücrelerde üreyerek sitopatik etki (CPE) olarak adlandırılan morfolojik değişiklikler meydana getirirler (Echavarria M.,2008). Enterik adenovirüsler ise en iyi adenovirüs tip5 ile transforme insan embriyonik böbrek hücrelerinin (HEK) sürekli dizisi olan Graham 293 hücrelerinde ürer (Takiff HE ve ark., 1981).

Adenovirüslerin sitopatik etkisi hücrelerin agrege olarak üzüm salkımına benzer bir görünüm oluşturur. Sitopatik etkinin meydana gelme süresi adenovirüsün serotipine, örnekteki viral partikül yoğunluğuna ve hücre dizisi duyarlılığına göre değişmekle beraber 2-28 gün içerisinde görünür hale gelir (Engler HD ve J Preuss, 1997)

Hücre kültüründe adenovirüslerin üretilmesi 2-4 hafta sürebilen uzun bir süreçtir ve zahmetlidir. Son yıllarda shell-vial yöntemiyle yapılan hızlı hücre kültürü yöntemi inokülasyonundan sonra 1-2 gün içerisinde pozitif kültürlerin büyük bir kısmını tespit ettiği için laboratuvar teşhisinde önemli yere sahiptir (Brooks GF ve ark., 2006).

Shell-vial hücre kültüründe santrifüj işlemi uygulanarak virüsün hücre içine girişi hızlandırılır ve üreme süresinin kısaltılmasını sağlar. “Shell-vial” tüplerinde içerisindeki lamlara üzerinde üretilmiş hücre kültürüne ekim yapılır. 24-48 saat sonra lamlara şüphelenen virüse özgül ve floresan madde ile işaretli antikörelere

bağlanarak değerlendirilir. Böylece sitopatik etki oluşumu beklemeden hücre içindeki erken viral proteinler saptanmış olur. Bu yöntemin adenovirüslerin hızlı teşhisinde kullanılabileceği belirtilmiştir (Engler HD ve J Preuss, 1997; Van Doornum GJ ve De Jong JC, 1998; Lee JH ve ark., 2010).

2.7.2.3. Serolojik yöntemler

Adenovirüs enfeksiyonu tanısında spesifik IgM veya IgG varlığının gösterilmesinde; EIA, IF, nötralizasyon, hemagglütinasyon inhibisyon (HAI) ve kompleman birleştime deneyi (KBD) yöntemleri kullanılmaktadır.

Kompleman Birleştirme Deneyi gruba özgü antijenleri saptar ancak serotipe özgü değildir. Adenovirüslerin herhangi bir serotipi ile oluşan enfeksiyonlarda; akut ve konvelesan dönemler arasında antikor titresinde en az dört kat artışın anlamlı olduğu, duyarlılığı düşük bir testtir. Nötralizasyon ve hemagglütinasyon inhibisyon testleri ise serotipe özgül sonuçlar vermektedir (Brooks GF ve ark., 2013).

Serolojik yöntemler; spesifik IgM'nin enfeksiyonların %20-50'sinde görülmesi, zayıf immün cevap durumunda yanlış negatif sonuçlar verilmesi, yanlış pozitif sonuçların saptanabilmesi gibi çeşitli sınırlamaları olmasına karşın epidemiyolojik çalışmalar açısından önemini korumaktadır.

2.7.2.4. Tip tayini

2.7.2.4.1. Nötralizasyon testi

Nötralizasyon testi bağışıklık serumunda bulunan ve virüsün nötralize eden antikorlar kullanılarak yapılan, uygulaması zor ve zaman alıcı olmasına rağmen serolojik tanıda altın standart olarak kabul edilen türe özgü testlerdir. Hücre kültürü veya deney hayvanları kullanılmaktadır (Murray PR ve ark., 2009).

2.7.2.4.2. Hemagglütinasyon ve hemagglütinasyon inhibisyon testi

Adenovirüs izolatlarının tip spesifik identifikasyonunda grup belirlemek için hemagglütinasyon testi daha sonra spesifik serotipleri belirlemek için hemagglütinasyon inhibisyon ve nötralizasyon testi uygulanabilir. Testin uygulanabilmesi için hastalığın akut veya konvelesan dönemlerinde alınan hasta

serumuna, standart bir eritrosit süspansiyonuna ve titre edilmiş standart antijenlere gerek duyulur (Ustaçelebi Ş ve Us D, 1999).

2.7.2.4.3. Restriksiyon enzim analizi

Genomik yapı ve genetik dizilim, virüs tipleri ve türleri arasında gösterdiği farklılığı DNA'nın Restriksiyon endonükleazlar (RE) yardımıyla kesimini göstermek mümkündür.

Restriksiyon endonükleazlar, kısa DNA dizilerini özgül olarak tanıyan ve bu bölgelerden veya bu diziler içindeki spesifik bölgelerden DNA'yı kesen enzimlerdir. RE'lar 'Restriction Fragment Length Polymorphism' (RFLP) ya da 'Pulse Field Gel Electrophoresis' (PFGE) gibi nükleik asit tabanlı tiplendirmede sıklıkla kullanılan yöntemler arasındadır (Pingoud A ve ark., 1993).

2.7.2.4.4. Nükleotit dizi analizi

DNA dizi analizi, DNA'nın nükleotit dizilerinin belirlenmesini ifade eder. Nükleotit dizilerinin saptanmasında Maxam-Gilbert kimyasal degradasyon yöntemi ile Sanger'in 2-3 dideoksi enzimatik yöntemi olmak üzere iki temel teknik geliştirilmiştir (Maxam AM ve Gilbert W, 1977; Sanger F ve ark., 1977).

Günümüzde yaygın olarak kullanılan Sanger dizi analizi yönteminde, amplifikasyon ile elde edilmiş tek iplikçi DNA, DNA polimeraz enzimi, deoksiniükleotid (dNTP) ve substrat olarak deoksiribozun 3' noktasında hidroksil grubu bulundurmeyen dideoksiniükleotid (ddNTP) 'ler kullanılmaktadır. Sentezlenen DNA iplikçiğine dNTP eklenmesiyle uzama devam ederken ddNTP ilavesi halinde zincir uzaması sonlanır. Kalıp DNA, primer, dNTP ve enzim içeren dört reaksiyon tüpünün her birine farklı ddNTP eklenmesiyle reaksiyon tüplerinde ddNTP'lerin kullanımına bağlı olarak farklı uzunlukta DNA parçaları meydana gelir. Bu DNA parçaları poliakrilamid jelde yürütülerek görüntülenir ve uzunluk sırasına göre dizilen parçaların sonunda bulunan ddNTP'ler okunarak hedef nükleotid dizisi çıkarılır. Elde edilen nükleotid dizileri Gen Bankasındaki gruplara özgü gen bankası dizileri ile karşılaştırılarak identifikasyon işlemi yapılır (Erdin BN, 2012).

Günümüzde sıklıkla kullanılan otomatik DNA dizi analizi yönteminde Sanger'in enzimatik DNA dizisine dayanan zincir sonlanma yöntemi kullanılır. Otomatik DNA dizi analizi cihazları bilgisayarda yüklü programlar ve bu programların yönettiği elektroforez sistemlerinden oluşur. Zaman ve standart çalışma koşulları açısından oldukça avantaj sağlar.

2.8. Adenovirüs Enfeksiyonlarından Korunma Ve Tedavi

Adenovirüs enfeksiyonlarından başta gelen korunma yöntemi el yıkamadır. Enfeksiyondan şüphelenilen hastanın görülmesi halinde; oküler araçların ve yüzeylerin dezenfeksiyonu, hastanın izolasyonu gibi kontrol önlemleri alınmalıdır. Hastaların birlikte yaşadığı kişilerin de gerekli kişisel hijyen önlemlerini alması gerekir (Liesegang TJ, 2010). Adenoviral konjonktivit, kliniklerin kapatılmasına kadar ciddi nozokomiyal salgınlara neden olmaktadır. Nozokomiyal bulaş halinde klinik/poliklinik bir süre kapatılması ve dezenfeksiyonu gerekmektedir (Cheung D ve ark., 2003; Kaneko H ve ark., 2008).

Adenovirüs enfeksiyonu tedavisinde etkinliği kesinleşmiş bir antiviral ajan bulunmamaktadır.

Sidofovir antiviral ilaçlar içinde en güçlü etkiye sahip olandır ve adenovirüsün tüm tiplerinde etkilidir. Sidofovir viral DNA polimerazı inhibe eden sitozin monofosfat analogudur. İmmun yetmezlik durumunda gelişen adenovirüs enfeksiyonlarında yaygın olarak kullanılır (Sdiri-Loulizi K ve ark., 2008; Echavarria M, 2009).

Ribavirin hücre membranından geçerek hücre içine fosforile olur ve inozin monofosfat dehidrogenazı inhibe eder. Adenovirüs enfeksiyonlarında yeterli etkinliği bulunamamış olup daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (Kinchington PR ve ark., 2005).

Gansiklovir DNA polimeraz inhibisyonu üzerinden etki mekanizmasına sahip bir nükleozid analogudur. Adenoviral keratokonjonktivit tedavisindeki etki

mekanizması, adenovirüslerin viral timidin kinaz eksikliğine bağlanabilir (Naesens L ve ark., 2005; Huang J ve ark., 2014, Lion T, 2014).

Akut dönemde steroidler, suni gözyaşı damlaları ve bazı olgularda süperenfeksiyonu önlemek amacıyla antibiyotikli damlalar gibi semptomatik tedavi yöntemleri kullanılmaktadır (Meyer-Rüsenberg B ve ark., 2011).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan besiyerleri

UTM® (Copan Diagnostic, İtalya)

3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler

25 mM MgCl₂ (Thermo Fisher, ABD)

25 mM dNTP (Thermo Fisher, ABD)

Taq DNA Polimeraz (Thermo Fisher, ABD)

Agaroz (Canvaxbiotech, İspanya)

10X Tris-EDTA (Canvaxbiotech, İspanya)

GreenSafe DNA Gel Stain (Canvaxbiotech, İspanya)

Yükleme boyası-Loading Dye (Canvaxbiotech, İspanya)

100 bp Ladder (Canvaxbiotech, İspanya)

Primerler;

Hekzon7 (R):5'CTGATGTACTACAACAGCACTGGCAACATGGG3'

Hekzon7 (F):5'GCGTTGCGGTGGTGGTTAAATGGGTTTACGTTGTCCAT3'

Distile Su

3.1.3. Kullanılan ticari kitleler

AdenoPlus™ (Rapid Pathogen Screening Inc., Sarasota, Florida, USA)

ELITE MGB® Kit (ELITechGroup, İtalya)

ExoSAP-IT™ (Thermo Fisher Scientific, ABD)

BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, ABD)

3.1.4. Kullanılan cihazlar

ELITE InGenius (ELITechGroup, İtalya)

T100™ Thermal Cycler (BioRad)

ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA)

Güvenlik Kabini (Heraeus-HERA safe, Türkiye)

Elektroforez Tankı (AE-6110, Japonya)

Mikrodalga Fırın (Arçelik, Türkiye)

+4°C'lik soğutucu (Arçelik, Türkiye)

Derin Dondurucu (Arçelik, Türkiye)

Vortex (Heidolph, Almanya)

Santrifüj (Eppendorf, Almanya)

Mikropipet Seti (Thermo Fisher, ABD)

3.2. Yöntem

3.2.1. Konjunktival sürüntü örneklerin toplanması

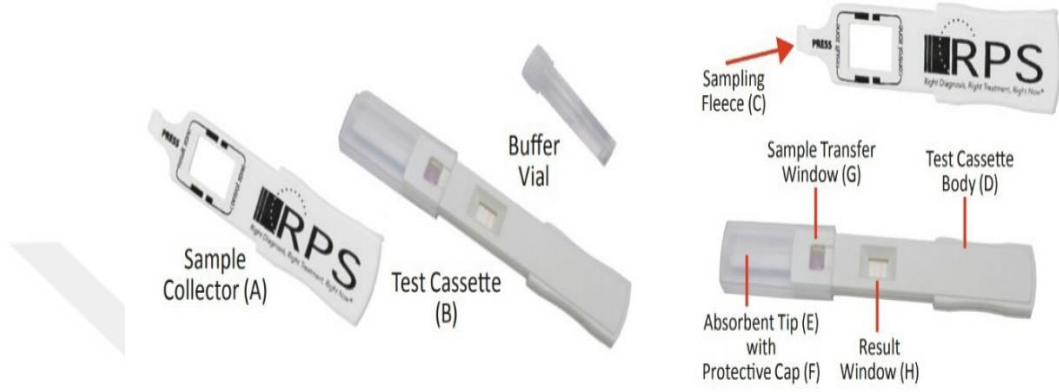
Ocak 2018-Kasım 2019 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Polikliniği'ne gözde sulanma, yabancı cisim hissi, kızarıklık, fotofobi şikayetleri ile başvuran ve klinik olarak adenoviral keratokonjunktivit ön tanılı hastalara ait 82 konjunktival sürüntü örneği dakron eküvyon ile alınarak UTM® (Universal Transport Medium) (Copan Diagnostic, İtalya) içerisinde mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırıldı.



Resim 1. UTM® (Copan Diagnostic, İtalya)

3.2.2. Viral konjonktivit olgularında hızlı tanı kiti ile antijen tayini

AdenoPlus™ (Rapid Pathogen Screening Inc., Sarasota, Florida, USA) adenoviral antijenlerinin (hekzon proteini) doğrudan insan göz sıvısından görsel, nitel, *in vitro* olarak saptanması için hızlı bir immunoassay testidir.



Resim 2. AdenoPlus™ Test Aleti

Gözün alt kapağın iç kısmını (palpebral konjonktiva) açığa çıkarmak için hastanın göz kapağını yavaşça indirildi. Test çubuğu göz yaşı sıvısı ile doyurulana kadar palpebral konjonktiva boyunca gezdirdi. Örnek alımından sonra test yatay olarak 10 dakika boyunca düz bir yüzeyde bekletildi.

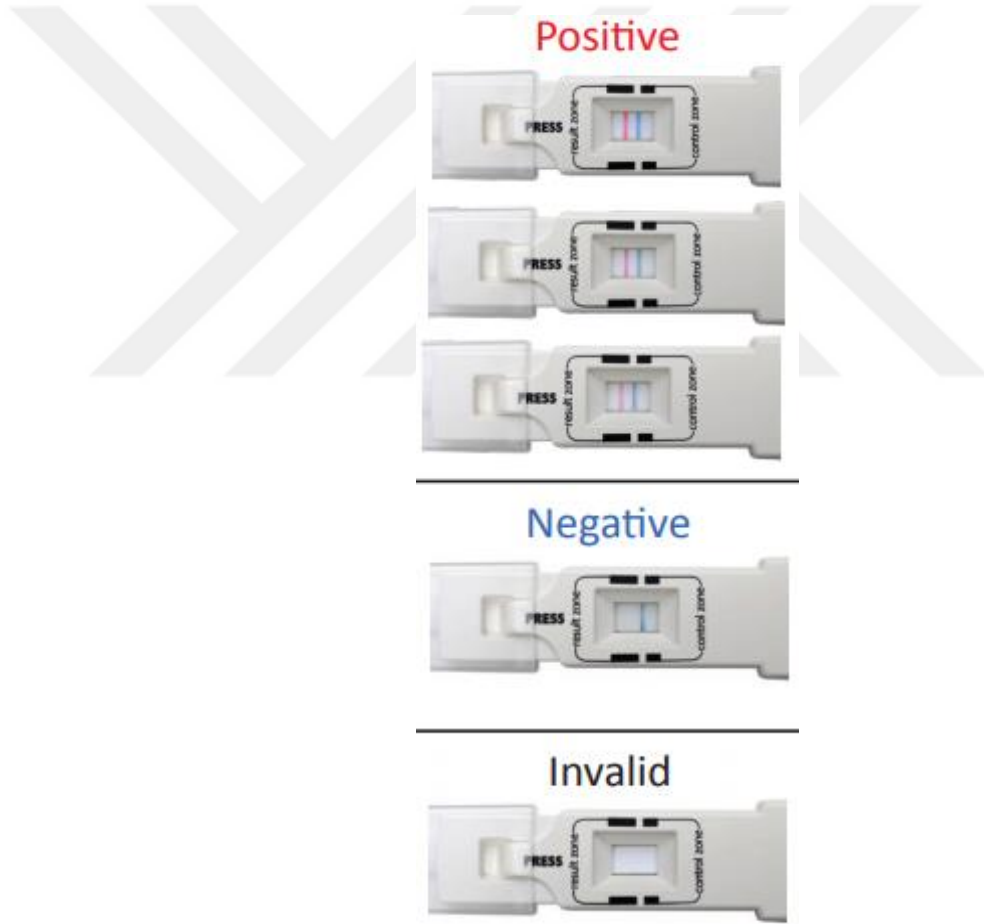


Resim 3. AdenoPlus™ Test Aleti ile Örnek Alımı

Kontrol çizgisi, kontrol bölgesinde mavi bir çizgi olarak görünür. Testin doğru uygulandığını ve performansını gösterir, testin geçerli olması için görünmesi gerekir.

Kontrol bölgesinde mavi çizginin ve sonuç bölgesinde kırmızı çizginin bulunması pozitif bir sonucu belirtir, bu durum adenovirüs antijenlerinin varlığını ifade eder.

Kontrol bölgesinde sadece mavi çizgi beliriorsa olumsuz sonuç olarak değerlendirildi.



Resim 4. AdenoPlus™ Testi Sonuç Okuma

3.2.3. Dezenfeksiyon etkinliğinin değerlendirilmesi için çevresel sürüntü örneklerinin toplanması

Adenovirüs enfeksiyonu Şüpheli hastaların muayenesi sırasında, hastalar arasında çapraz bulaş riskini değerlendirmek için poliklinikte uygulanan dezenfeksiyon prosedüründen önce (n=9) ve sonra (n=9) olmak üzere iki farklı koŐulda ve zamanda çevresel sürüntü örnekleri toplandı.

Örnekler oftalmoskopi cihazı, hasta koltuğu, hekim masası, lavabo, odanın kapı kolu gibi hastanın olası temas edebileceği alanlardan alındı.

3.2.4. Viral nükleik asit ekstraksiyonu ve adenovirüs DNA'sının kantitasyonu

Hastalardan steril dakron eküvyon ile konjonktival sürüntü örnekleri alındı ve viral transport medium (UTM: Copan Italia. SpA, Brescia, Italya) içerisinde, +4°C'de mikrobiyoloji laboratuvarına transportu sağlandı. Örnekler moleküler çalışmaya uygun koŐullarda çalışma yapılıncaya kadar -80°C'de saklandı. Örneklerden adenovirüs DNA izolasyonu, amplifikasyonu ve kantitasyonu adenovirüs ELITE MGB® kiti ile gerçek zamanlı PCR yöntemi ile tam otomatize olarak ELITE InGenius sisteminde (ELITechGroup S.p.A., ref. INT030, Italy) retici firmanın önerilerine göre çalıŐıldı.

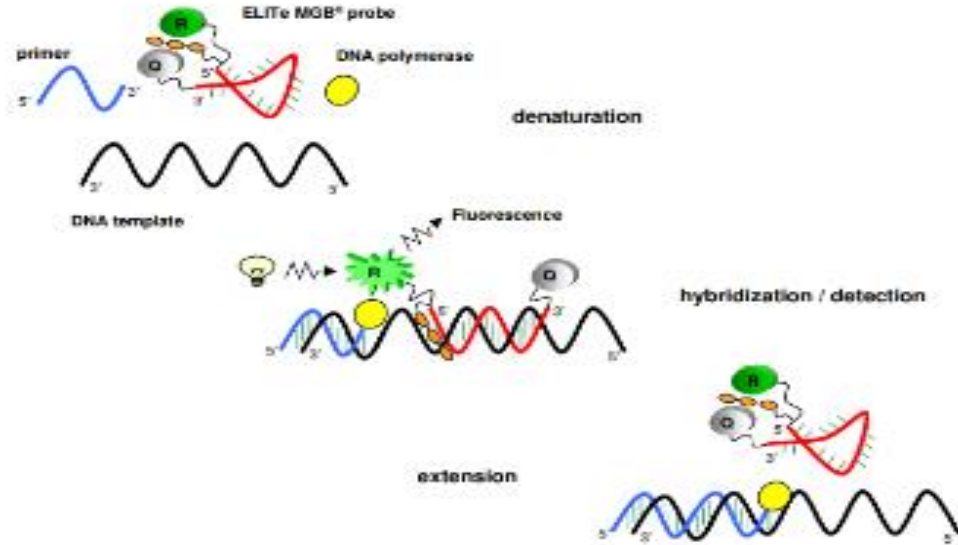
ELITE MGB® kiti tam kan, plazma ve swab örnekleri için valide edilmiştir ve klinik örneklerde insan adenovirüs A, B, C, D, E, F ve G (57 serotipi içeren) genotiplerinin gerçek zamanlı PCR yöntemi ile kalitatif ve kantitatif tayinini sağlamaktadır. Testin saptama hedefi adenovirüsün hekson protein genidir.

Kontrol ve kalibratörler: Kalibrasyon için; ADV ELITE_STD, pozitif kontrol amplifikasyonu için; ADV ELITE_PC, negatif kontrol amplifikasyonu için; ADV ELITE_NC kullanıldı.

İnternal Kontrol: Nükleik asit izolasyonunun pozitif kontrolü ve amplifikasyon inhibisyon kontrolü için internal kontrol olarak iki plazmid DNA'sı içeren stabilize plazmid solüsyonu ve MS2 genomic RNA içeren CPE- Internal Control (ELITechGroup S.p.A., ref. CTCPE) kullanıldı.

DNA İzolasyonu: Örneklerdeki adenovirüs DNA'sının izolasyonunda klinik örneklerden DNA izolasyonu için valide edilmiş Elite InGenius® SP 200 ekstraksiyon kartuşu kullanıldı.

Amplifikasyon ve Saptama: Her örnekten izole edilen DNA için adenovirüs hekson gen hedefini ve internal kontrol olarak değerlendirmek üzere insan β Globin genini saptamak için iki amplifikasyon reaksiyonu gerçekleştirildi. ADV spesifik prob FAM florofor ile internal kontrol spesifik probu ise AP525 floroforu ile işaretlenmiştir. Her iki prob da amplifikasyon reaksiyon ürünü ile hibridize olduğunda aktive olur ve floresan ışığa açığa çıkar. Amplifikasyon reaksiyonu spesifik ürünü ortamda artmaya devam ettikçe oluşan floresan sinyal düzeyi de artar, bu sinyal cihaz tarafından optik sistemle ölçülür ve bilgisayara kaydedilir. Bu verinin analizi örnekte başlangıçtaki ADV DNA'sının varlığını ve titresini saptamaya olanak tanır.



Şekil 4. Sentetik bir biçimde ELITE MGB® teknoloji probunun aktivasyonu ve floresans emisyon mekanizması

Kullanılacak kitin içinde yer alan, kantasyonları bilinen 4 farklı logaritmik dilisyona sahip ADENOVIRUS ELITE Standartları (ELITechGroup S.p.A., ref.STD078PLD) kullanılarak oluşturulan standart eğri aracılığıyla klinik örneklerde kantitatif virüs miktarı saptandı. Kitin adenovirüs DNA için kantasyon

aralığı 250-25000000 kopya/mL ve en düşük saptama sınırı 250 kopya/mL'dir. Bu nedenle 250 kopya/mL'in altı değerlendirme dışı bırakılmıştır.



Resim 5. ELITE InGenius®- ELITechGroup

3.2.5. PCR

Elde edilen ekstraktların PCR'ı için Sarantis ve arkadaşlarının (Sarantis H ve ark., 2004) çalışmasında tanımlandığı gibi viral hekson geninin "Hypervariable Region 7" (HVR-7) bölgesini de içeren ve genotipe göre farklılık gösteren 605-629 bazlık bir bölgesini hedef alan primerler kullanıldı.

PCR reaksiyonu T100™ Thermal Cycler (BioRad) cihazında gerçekleştirildi.

Tablo 1: PCR'da kullanılan primerler

<i>Hekzon7(R)</i>	5'CTGATGTACTACAACAGCACTGGCAACATGGG3'
<i>Hekzon7(F)</i>	5'GCGTTGCGGTGGTGGTTAAATGGGTTTACGTTGTCCAT3'

Tablo 2: PCR Bileşenleri ve Reaksiyon Başına Miktarları

REAKSİYON BİLEŞENLERİ	KULLANILACAK MİKTAR (μL)
10X PCR Tampon	2,5
MgCl ₂ (25 mM)	1,5
dNTP Mix (25 mM)	0,2
Primer 1 (ADV A-F) (10 pmol/ μL)	0,7
Primer 2 (ADV A-R) (10 pmol/ μL)	0,7
Taq DNA Polimeraz	0,25
DNA örneği	3
Distile Su	16,15
TOPLAM	25

Tablo 3: PCR Reaksiyon Döngüsü

PCR REAKSİYON DÖNGÜSÜ			
Reaksiyon Aşamaları	Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)	Süre (dk)	Döngü
Ön denatürasyon	95	15	1X
Denatürasyon	95	1	40X
Bağlama	52	1	
Uzama	72	1	
Son Uzama	72	10	1X

3.2.6. PCR ürünlerinin jel elektroforezi ile görüntülenmesi

PCR ürünlerinin varlığı ve büyüklüğü jel elektroforezine tabi tutularak incelendi.

%1,5'lik agaroz jel hazırlamak için beher içerisinde 1.5 gr agaroz tartıldı ve üzerine 100 ml 1X TBE buffer eklendi. Tampon içindeki agaroz eriyip şeffaflaşana kadar ısıtıcıda kaynatıldı. Ilıması beklendikten sonra 2 μl 1000X syber green boyası eklenerek kasete döküldü, taraklar yerleştirilerek polimerleşmesi beklendi. Jel polimerleştikten sonra tarak yavaşça çıkarıldı ve içerisinde 1X TBE buffer bulunan tankın içerisine yerleştirildi. 5 μl PCR ürünü alınarak 2 μl yükleme boyası ile karıştırılıp jel içerisindeki kuyucuklara yüklenerek 120V'de 20 dk yürütüldü.

Elektroforez sonucunda ultraviyole transilluminatörde fotoğraflanarak bant oluşumu değerlendirildi.

3.2.7. PCR reaksiyonu pürifikasyonu

PCR reaksiyonu sonunda PCR ürünleri içerisinde bağlanmamış primerler ve dNTP'ler kalır. Kalan primer ve dNTP'lerin enzimatik olarak uzaklaştırılması için Exo-SAP enzim karışımı kullanıldı.

Her reaksiyon 2 µl enzim karışımı ve 5 µl PCR ürünü ile gerçekleştirildi.

Ürünler 'ExoSap-IT' ile saflaştırıldıktan sonra, sekans aşaması için uygun hale geldi.

Tablo 4. PCR Pürifikasyon Reaksiyonu Bileşenleri ve Reaksiyon Başına Miktarları

	Kullanılacak Miktar (µL)
PCR Ürünü	2
ExoSap	5
TOPLAM	7

Tablo 5. PCR Pürifikasyon Reaksiyonu Döngüsü

ExoSAP-IT- DÖNGÜSÜ			
	Sıcaklık	Süre	Döngü
1.ADIM	37 °C	15 dk	1X
2.ADIM	80 °C	15 dk	1X
3.ADIM	4 °C	∞	1X

3.2.8. Sekans Reaksiyonu

PCR ürünlerinin saflaştırıldıktan sonra dizinlemesi için Sanger yöntemi temeline dayalı BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanıldı. Yöntemde bir reaksiyonda sadece tek bir kalıp zincirin okuması sağlanacağı için sadece forward primer kullanıldı.

Tablo 6. Sekans Reaksiyon İçeriği

	Kullanılacak Miktar (μL)
DW	11.3
5X Sekans Buffer	2
Primer (5 mM)	0.7
Hazır Reaksiyon Karışımı	4
Örnek	2
TOPLAM	20

Tablo 7. Sekans Reaksiyon Döngüsü

SEKANS REAKSİYON DÖNGÜSÜ			
	Sıcaklık	Süre	Döngü
1.Adım	96 °C	1 dk	1X
2.Adım	96 °C	10 sn	25X
	50°C	5 sn	25X
	60°C	4 dk	25X
3.Adım	4 °C	∞	1X

3.2.9. Sekans örnekleri pürifikasyonu

1. Sekans reaksiyonu örneklerinde bağlanmamış floresan işaretli ddNTP'lerin ortamdan uzaklaştırılması için kolon pürifikasyon işlemi gerçekleştirildi.
2. 240 μl binding tamponu ile kolona yüklenen sekans örnekleri 3000 g'de 2 dk santrifüj edildi.
3. Daha sonra alt sıvı boşaltılıp 300 μl yıkama tamponu eklenerek 3000 g'de 5 dk santrifüj işlemi yapıldı.
4. Kuruyan kolon üzerine 15 μl formamid eklenerek 3000 g'de 2 dk santrifüj işlemi tekrarlandı.
5. Kolondan geçen örnekler cihaz için uygun tüplere aktarılıp üzerleri septa ile kapatılarak cihaz hazır hale getirildi.

3.2.10. Kapiller elektroforezde dizileme aşaması

Saflaştırılmış sekans ürünleri ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA) cihazının örnek yükleme tablasına yerleştirilip sekans matriksinde POP-4 ve 36 cm kapiller kullanılarak dizileme okuması başlatıldı.



Resim 6. ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA)

3.2.11. Sonuçların kontrol edilmesi

ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA) cihazında yürütülerek elde edilen ham veri Finch TV ve Bioedit programları ile analiz edildi.

3.2.12. Sekans analizi yorumlanması

Elde edilen DNA dizileri BLAST analizi ile tiplendirildi. 'MEGA-X' programı kullanılarak "neighbour-joining" metodu ile filogenetik ağaç çizilmiştir. Filogenetik ağacın güvenilirliği 1000 tekrardan oluşan "bootstrap" testi ile incelenmiştir.

4.BULGULAR

4.1. Konjonktival Sürüntü Örneklerinde Hızlı Tanı Testi ve Kantitatif Gerçek Zamanlı PCR Sonuçları

Adenoviral keratokonjonktivit ön tanılı hastalardan alınan ve AdenoPlus™ hızlı tanı kiti ile pozitif sonuç veren 82 konjonktival sürüntü örneğinde kantitatif gerçek zamanlı PCR ile adenoviral DNA pozitifliği doğrulandı.

Jel elektroforezinde bant varlığı gösteren 72 örnek DNA dizi analizine dahil edildi.

Örneklerin viral yük ortanca değeri $\log_{10} = 7,1$ kopya /mL (aralık: $\log_{10} = 4,7 - \log_{10} = 7,4$ kopya /mL) olarak saptandı.

Tablo 8. Konjonktival Sürüntü Örneklerinde Hızlı Tanı Testi ve Kantitatif Gerçek Zamanlı PCR Sonuçları

	HIZLI TEST SONUÇLARI	VİRAL YÜK (KOPYA/ML)
1. HASTA	Pozitif	47 768
2. HASTA	Pozitif	240 148
3. HASTA	Pozitif	258 108
4. HASTA	Pozitif	282 944
5. HASTA	Pozitif	458 074
6. HASTA	Pozitif	487 074
7. HASTA	Pozitif	635 958
8. HASTA	Pozitif	765 324
9. HASTA	Pozitif	777 500
10. HASTA	Pozitif	809 257
11. HASTA	Pozitif	823 152
12. HASTA	Pozitif	1 141 183
13. HASTA	Pozitif	1 320 131
14. HASTA	Pozitif	1 473 027
15. HASTA	Pozitif	1 655 116
16. HASTA	Pozitif	1 871 323
17. HASTA	Pozitif	2 428 829
18. HASTA	Pozitif	2 646 187
19. HASTA	Pozitif	2 742 451
20. HASTA	Pozitif	3 064 619
21. HASTA	Pozitif	3 108 977
22. HASTA	Pozitif	3 493 947
23. HASTA	Pozitif	3 661 470
24. HASTA	Pozitif	3 663 106

Tablo 8. Konjonktival Sürüntü Örneklerinde Hızlı Tanı Testi ve Kantitatif Gerçek Zamanlı PCR Sonuçları (devam)

25. HASTA	POZİTİF	4 092 219
26. HASTA	Pozitif	4 600 523
27. HASTA	Pozitif	5 306 706
28. HASTA	Pozitif	5 455 670
29. HASTA	Pozitif	6 280 483
30. HASTA	Pozitif	6 769 827
31. HASTA	Pozitif	7 702 499
32. HASTA	Pozitif	8 256 465
33. HASTA	Pozitif	8 883 097
34. HASTA	Pozitif	9 189 809
35. HASTA	Pozitif	9 867 131
36. HASTA	Pozitif	11 395 860
37. HASTA	Pozitif	12 800 476
38. HASTA	Pozitif	13 191 136
39. HASTA	Pozitif	14 374 843
40. HASTA	Pozitif	17 922 252
41. HASTA	Pozitif	18 292 624
42. HASTA	Pozitif	18 377 834
43. HASTA	Pozitif	20 724 289
44. HASTA	Pozitif	21 030 791
45. HASTA	Pozitif	24 010 385
46. HASTA	Pozitif	24 572 754
47. HASTA	Pozitif	>25 000 000
48. HASTA	Pozitif	>25 000 000
49. HASTA	Pozitif	>25 000 000
50. HASTA	Pozitif	>25 000 000
51. HASTA	Pozitif	>25 000 000
52. HASTA	Pozitif	>25 000 000
53. HASTA	Pozitif	>25 000 000
54. HASTA	Pozitif	>25 000 000
55. HASTA	Pozitif	>25 000 000
56. HASTA	Pozitif	>25 000 000
57. HASTA	Pozitif	>25 000 000
58. HASTA	Pozitif	>25 000 000
59. HASTA	Pozitif	>25 000 000
60. HASTA	Pozitif	>25 000 000
61. HASTA	Pozitif	>25 000 000
62. HASTA	Pozitif	>25 000 000
63. HASTA	Pozitif	>25 000 000
64. HASTA	Pozitif	>25 000 000
65. HASTA	Pozitif	>25 000 000
66. HASTA	Pozitif	>25 000 000
67. HASTA	Pozitif	>25 000 000
68. HASTA	Pozitif	>25 000 000
69. HASTA	Pozitif	>25 000 000
70. HASTA	Pozitif	>25 000 000
71. HASTA	Pozitif	>25 000 000
72. HASTA	Pozitif	>25 000 000

4.2. Çevreden Alınan Sürüntü Örneklerinde Kantitatif Gerçek Zamanlı PCR Sonuçları

Poliklinikte uygulanan dezenfeksiyon etkinliği; muayene öncesi ve sonrası olmak üzere iki farklı koşul ve zamanda alınan çevresel sürüntü örneklerinde hADV varlığı araştırılarak değerlendirildi.

Dezenfeksiyon işlemi uygulanmadan önce alınan tüm çevresel örneklerde (9/9) adenovirüs varlığı saptandı. Dezenfeksiyon işlemi uygulandıktan sonra alınan örneklerin üçünde (3/9) (oftalmoskopi cihazı ile hastanın çenesinin temas ettiği bölge, hastanın oturduğu koltuk ile sağ elinin temas ettiği bölge, odanın kapı kolu) adenovirüs pozitifliği devam etti.

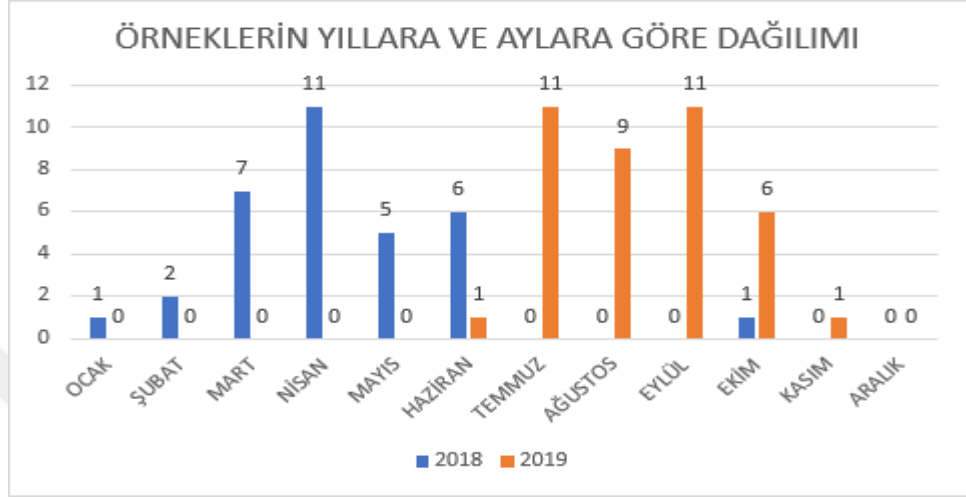
Çevresel sürüntü örneklerinde adenovirüs varlığını tespit etmekle birlikte örneklerdeki viral yükün zayıf olması sebebiyle jel elektroforezinde bant görüntüsü gözlemlenmedi ve sekans analizine dahil edilmedi.

Tablo 9. Çevresel sürüntü örneklerinin alındığı yerler ve kantitatif gerçek zamanlı PCR ile hADV varlığı sonuçları

Çevresel Sürüntü Örneklerinin Alındığı Yerler	Dezenfeksiyon Öncesi	Dezenfeksiyon Sonrası
Oftalmoskopi cihazı ile hastanın alnının temas ettiği bölge	Saptandı	Saptanmadı
Oftalmoskopi cihazı ile hastanın çenesinin temas ettiği bölge	Saptandı	Saptandı
Hastanın oturduğu koltuk ile sağ elinin temas ettiği bölge	Saptandı	Saptandı
Hastanın oturduğu koltuk ile sol elinin temas ettiği bölge	Saptandı	Saptanmadı
Oftalmoskopi cihazının bulunduğu masa	Saptandı	Saptanmadı
Hekimin çalışma masası	Saptandı	Saptanmadı
Lavabo	Saptandı	Saptanmadı
Odanın kapı kolu	Saptandı	Saptandı
Poliklinik girişindeki kapı kolu	Saptandı	Saptanmadı

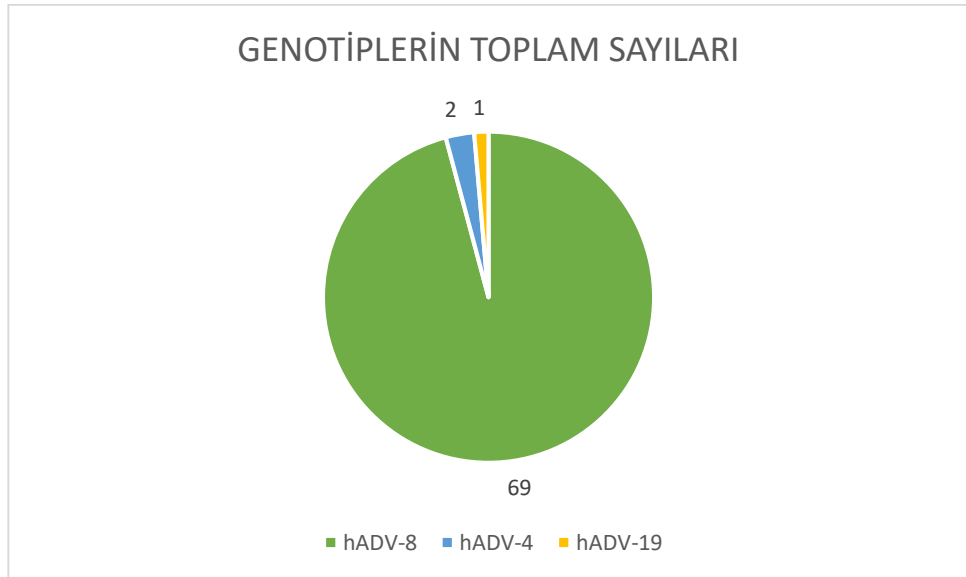
4.3. Sekans Sonuçları

Jel elektroforezinde bant varlığı gösteren 72 örnek DNA dizi analizi işlemine dahil edildi. Saptanan örneklerin 33'ü 2018 yılına, 39'u ise 2019 yılına aittir.



Şekil 5. Örneklerin yıllara ve aylara göre dağılımı

DNA dizi analizi yapılan 72 örnekte hADV-8 (%95,8), hADV-4 (%2,7) ve hADV-19 (%1,4) olmak üzere üç farklı genotip saptandı.



Şekil 6 . Saptanan adenovirüs genotiplerinin toplam sayıları

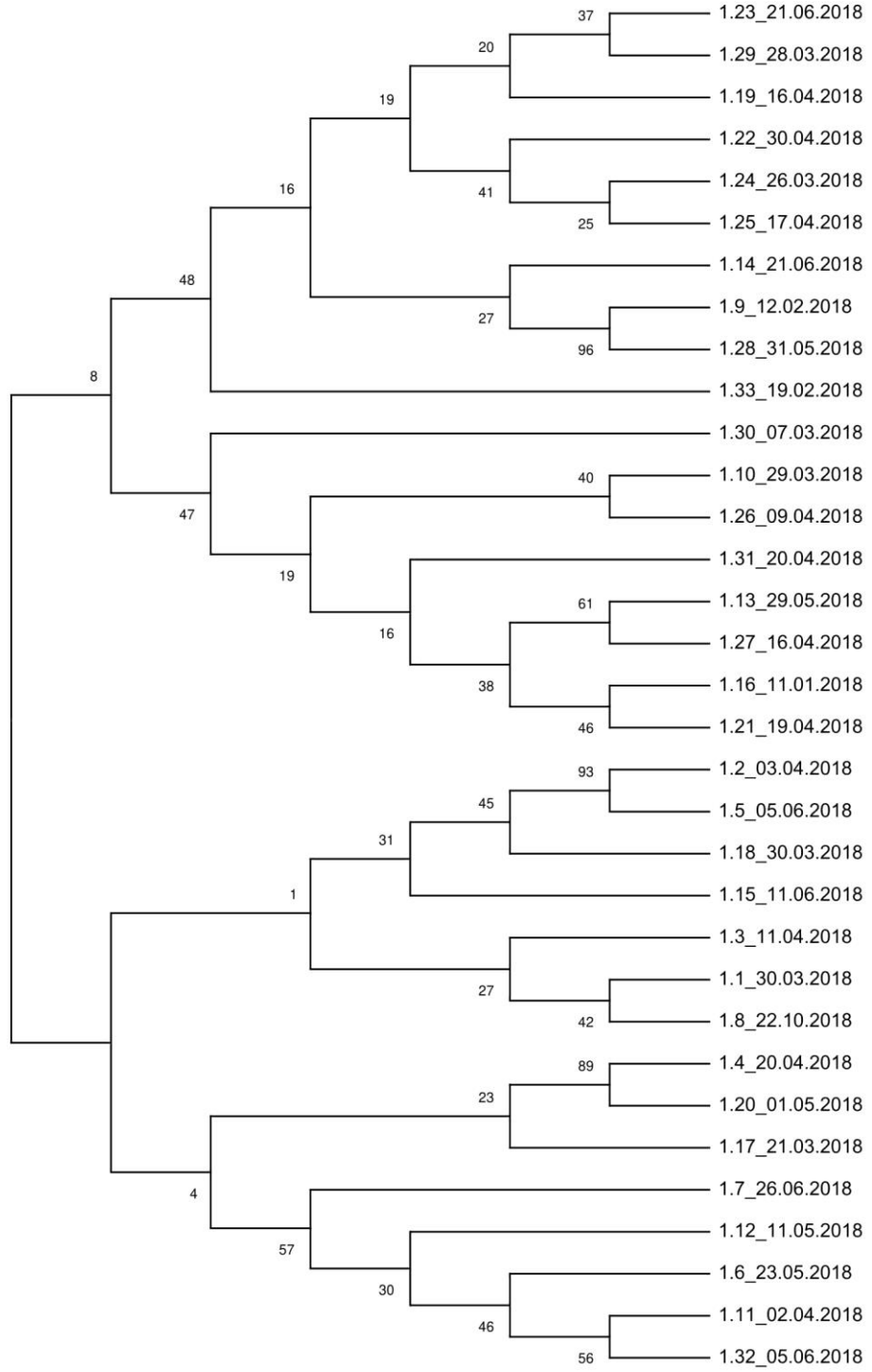
Suşlar arasındaki genotipik yakınlık derecelerini inceleyebilmek için filogenetik ağaç oluşturuldu. Örnekler hastaneye geliş tarihine göre gün/ay/yıl olarak numaralandırıldı (Şekil 7,8).

2018 yılına ait DNA dizi analizi yapılan tüm örneklerde (n:33) hADV-8 (%100) genotipi tespit edilmiştir. 2019 yılına ait DNA dizi analizi yapılan örneklerde (n:39) hADV-8 (n:36, %92,3), hADV-4 (n:2, %5,1) (örnek no: 2.13_12.07.2019 ve 2.16_12.07.2019) ve hADV-19 (n:1, %2,6) (örnek no: 2.10_02.08.2019) olmak üzere üç farklı genotip saptanmıştır (Tablo 9).

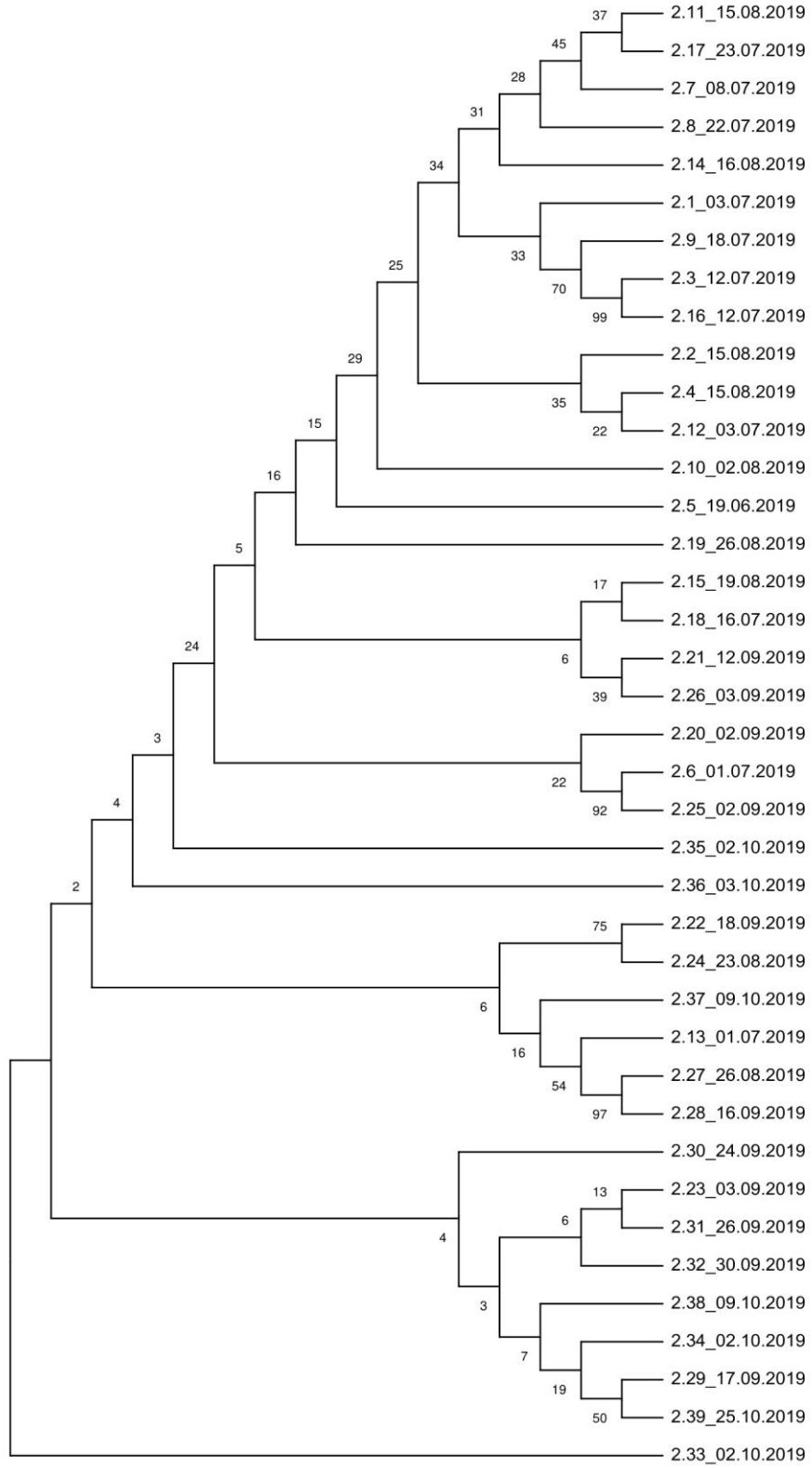
Tablo 10: Saptanan genotiplerin yıllara göre dağılımı

	2018	2019	TOPLAM
hADV-8	33	36	69
hADV-4	-	2	2
hADV-19	-	1	1
TOPLAM	33	39	72

Filogenetik analiz sonuçlarına bakıldığında, suşlar arasında baskın genotipik yakınlık derecesi gözlemlenememesi sebebiyle bir salgın analizi yapılamayacağı düşünüldü.



Şekil 7. 2018 yılına ait suşların filogenetik ağaçta gösterilmesi



Şekil 8. 2019 yılına ait suşların filogenetik ağaçta gösterilmesi

5. TARTIŞMA-SONUÇ

Adenovirüsler insanda en sık göz, solunum yolu, gastrointestinal, genitoüriner sistem enfeksiyonlarına neden olurlar (Ariga T ve ark., 2005). Nadiren hepatit, menenjit ve miyokardit etkeni olarak da karşımıza çıkar (Landry ML ve Hsiung GD, 1988; Martin AB ve ark., 1994).

Tüm dünyada viral keratokonjonktivit etkenleri arasında adenovirüsler ilk sırada yer almaktadır (Butt AL ve Chodosh J, 2006). Hastalığın klinik şekli ve şiddeti, virüsün alt tipine ve konağın immün durumuna göre değişiklik göstermektedir. Göz enfeksiyonlarında bulaş genellikle parmaklar, ortak kullanılan eşyalar, medikal cihazlar, yüzme havuzları aracılığıyla gerçekleşip okul, hastane, işyeri gibi kalabalık bulunan yerlerde salgınlara sebep olabilir (Mahmood AR ve Narang AT, 2008). Bu nedenle etkin tedavinin uygulanması ve gerekli enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınmasında hızlı ve güvenilir tanı yöntemlerine ihtiyaç vardır (Lu X ve Erdman DD, 2006; Wölfel R ve ark., 2006).

Epidemiyolojik çalışmalar, toplumda dolaşan adenovirüslerin genotiplerinin belirlenmesine ve salgınlara mevsimsel özelliklerinin saptanmasına ilişkin bilgi sağlayarak oluşabilecek salgınlara engellenmesine yardımcı olmaktadır. Japonya ve Amerika gibi ülkelerin bu konuda ulusal sürveyans programları da bulunmaktadır (Aoki K ve ark., 2002; Gray GC ve ark., 2007). Bu sürveyans programları toplumdaki hADV sirkülasyonunu izlenerek; salgınlara ilişkili tiplerin tanımlanmasına ve doğrulanmasına yardımcı olup tanısal test ve aşuların geliştirilmesine yönelik veri sağlanmaktadır (Binder AM ve ark., 2017).

Dünyanın çok farklı yerlerinden oküler adenovirüs enfeksiyonlarında saptanan genotiplerin belirlenmesine yönelik moleküler çalışmaları içeren birçok yayın yapılmıştır. Literatüre bakıldığında göz enfeksiyonuna neden olan adenovirüs genotipleri arasında en sık saptananlar hADV-3, hADV-4, hADV-7, hADV-8, hADV-19 ve hADV-37'dir (Sundaramoorthy R ve ark., 2016).

Japonya Sapporo'da 1979-1980 yılları arasında 343 vakanın 196'sında (%57) adenoviral konjonktivit tanısı konulmuştur. Genotip tayini sonucu hADV-8 %63,3 (124/196) oranında en sık saptanan genotip olup bunu sırasıyla hADV-4 (33/196, %16,8), hADV-3 (24/196, %12,2) ve hADV-19 (15/196, %7,6) takip etmiştir (Aoki K ve ark., 1982). 1995-2010 tarihleri arasında Japonya'da Fukui'de epidemik keratokonjonktivitli 157 hastanın 124 (%79)'ünde hADV tespit edilmiş, dizi analizi sonucu hADV-54 (66/124, %53,2), hADV-37 (40/124, %32,5), hADV-8 (8/124, %6,4), hADV-53 (5/124, %4), hADV-19 (4/124, %3,2) ve hADV-56 (1/124, %0,8) genotiplerine rastlanmıştır (Nakamura M ve ark., 2012). Japonya, Tokyo'da 2005 ve 2006 yılları arasında toplum temelli kliniklerde adenovirüs enfeksiyonunu inceleyen başka bir çalışmada ise, 189 hastadan göz sürüntü örnekleri toplanılmış ve %82'sinde (155/189) hADV saptanmıştır. Sekans analizi ile hADV-8 (34,8), hADV-11 (%23,2), hADV-3 (%16,8), hADV-37 (%15,5) ve hADV-4 (%9,7) olmak üzere beş farklı genotip bildirilmiştir (Matsui K ve ark., 2008).

Çin, Pekin'de akut adenoviral konjonktivitlerin epidemiyolojisi ve tip dağılımı hakkında çok az veri bulunmasına karşın 2011-2013 yılları arasında 18 hastaneyi dahil ederek yapılan akut konjonktivit sörveyans çalışmasında, PZR ile %39,8 (349/876) oranında hADV pozitifliğine rastlanmıştır. Adenoviral konjonktivit vakalarının %81,1'inden 5 tipin sorumlu olduğu belirtilerek bunların hADV-4 (%18), hADV-37 (%17,5), hADV-53 (%16,9), hADV-64 (%14,6) ve hADV-8 (%13,5) serotipleri olduğu bildirilmiştir (Li J ve ark., 2018).

Batı Hindistan'da 2013-2014 yılları arasında yapılan çalışmada, keratokonjonktivit olgularında %60,9 (14/23)'unda hADV varlığı tespit edilmiştir. hADV-8'in %78,6 (11/14) oranında baskın genotip olarak belirlendiği ve diğer saptanan genotiplerin ise hADV-37 (%7,2, 1/14), hADV-3 (%7,2, 1/14) ve hADV-4 (%7,2, 1/14) olduğu belirtilmiştir (Gopalkrishna V ve ark., 2016). Kuzey Hindistan'da 2014-2015 yılları arasında akut konjonktivitli hastalarda yapılan başka bir çalışmada ise, olguların %65,2 (15/23)'sinde PZR ile hADV pozitifliğine rastlanmıştır. DNA dizi analizine dahil edilen 7 örnekte hADV-8 (1/7) ve hADV-4(1/7) genotipleri saptanmıştır (Singh MP ve ark., 2018).

Vietnam'da 2006'da yapılan çalışmada, 21 örneğin 14'ünde (%66,7) gerçek zamanlı PCR ile hADV DNA tespit edilmiş ve örneklerde hADV-8(11/14, %78,6), hADV-3 (2/14, %14,3), hADV-37(1/14, %9,1) genotiplerine rastlanmıştır (Jin XH ve ark., 2006).

Suudi Arabistan'da 2002-2007 tarihleri arasında toplanan, PZR ile hADV DNA pozitif bulunan 73 örneğin genotip tayini sonucunda; %67,1'de hADV-8(49/73), %11'inde hADV-3(8/73), %8,2'sinde hADV-37(6/73), %6,8'inde hADV-4(5/73), %2,7'sinde hADV-19(2/73), %2,7'sinde hADV-22(2/73), %1.4'ünde hADV-14(1/73) genotipleri saptanmıştır (Tabbara KF ve ark., 2010). Ekim 2013-Nisan 2014 yılları arasında bir başka çalışmada, akut foliküler konjonktivitli 404 hastanın 83'ünde (%520,5) hADV varlığı saptanmıştır. DNA dizi analizi sonucu hADV-4(%28,9), hADV-19(%22,9), hADV-8(%8,4), hADV-37(%4,8), hADV-11(%3,6) ve hADV-3(%3,6) tespit edilmiştir (Mohammed AG ve ark., 2016).

Brezilya'da 2004-2007 yılları arasında hADV sıklığını ve genotiplerini belirlemeyi amaçlayan çalışmada; 75 örneğin 45'inde (%60) hADV pozitifliği saptanmıştır. Sekans analizi sonucunda %46,7'sinde hADV-19(21/45), %15,5'inde hADV-8 (7/45), %6,7'isnde hADV-3 (3/45) ve sadece birer örnekte hADV-1, hADV-2, hADV-3, hADV-4 ve hADV-6 genotipleri bulunmuştur, geriye kalan 9 örnek için genotip belirlenememiştir (Maranhao AG ve ark., 2009).

Kuzey Afrika, Tunus'da yapılan bir çalışmada, iki yıl boyunca (2012-2013) konjonktivit belirtileri ile başvuran 240 hastaya ait göz sürüntü örneklerinde hADV DNA pozitifliği %65 (156/240) oranında bulunmuştur. Pozitif örnekler arasında baskın genotip olarak hADV-8 (128/146, %87,6) belirtilmiş ve diğer genotiplerin hADV-4 (10/146, %6,8), hADV-3 (5/146, %3,5), hADV-55 (2/146, %1,3) ve hADV-37 (1/146, %0,6) olduğu bildirilmiştir (Fedaoui N ve ark., 2017).

Yunanistan'ın Selanik şehrinde, 1998-2002 yılları arasında 30 adenovirüs suşu (11'i sporadik vakalardan ve 19'u salgından) izole edilmiştir. 1998-2000 yılları arasında sporadik konjonktivit vakalarında hADV-2, -3, -4, -8 ve -15 genotiplerine rastlanılmıştır. 2002 yılında meydana gelen keratokonjonktivit salgını sırasında 18'inde hADV-8 ve 1'inde hADV-4 genotipleri bildirilmiştir (Frantzidou F ve ark., 2005). Yunanistan'da 2012 yılında viral konjonktivit olgularının moleküler

epidemiolojisinin nested-PZR ile değerlendirildiği başka bir çalışmada hADV sıklığı %83,3 (40/48) olarak bildirilmiş olup, yapılan genotip analizi ile en fazla hADV-17 (%72,5, 29/40) görüldüğü, görülen diğer tipin hADV-54 (%12,5, 5/40) olduğu ve kalan örneklerin (%15, 6/40) de tiplendirilemediği bildirilmiştir (Balasopoulou A ve ark., 2017).

Adenoviral keratokonjonktivitlerin alt tiplendirilmesi konusunda birçok ülkeden çok sayıda yayın olmakla birlikte ülkemizde yapılan çalışmalar oldukça kısıtlıdır.

Ankara'da 2003-2004 yılları arasında yapılan çalışmada, 34 hastanın konjonktival sürüntü örneklerinde PZR ile pozitif bulunan 9 (%26,5) örneğin dizi analizi sonucu hADV-8 (%44,4, 4/9), hADV-3 (%33,3, 3/9), hADV-4 (%11,1, 1/9) ve hADV-B (%11,1, 1/9) genotipleri saptanmıştır (Yağci R ve ark., 2010).

2012 yılında Malatya'da neonatal yoğun bakım ünitesinde meydana gelen adenoviral konjonktivit salgısına ilişkin 14 olguya ait sekans analizi çalışması sonucunda tamamında hADV-8 genotipinin etken olduğu gösterilmiştir (Ersoy Y ve ark., 2012).

İzmir'de 2006-2010 yılları arasında viral konjonktivitli hastalardan toplanan 448 konjonktival sürüntü örneklerinin 213'ünde (%44) adenoviral DNA PCR ile tespit edilmiştir. Bunlardan rastgele seçilen 101 (%47) örneğin filogenetik analizi sonucunda hADV-8 (%66,3, 67/101) ve hADV-4 (%24,7, 25/101) baskın genotip olarak saptanmıştır. Diğer saptanan genotiplerin ise hADV-3, hADV-11, hADV-19, hADV-37 ve hADV-53 (%8,9, 9/101) olduğu bildirilmiştir (Erdin BN ve ark., 2015).

Mersin'de akut konjonktivitli hastalardan konjonktival sürüntü örnekleri (n=100) alınmış ve örneklerin 30'unda (%30) hADV pozitifliği saptanmıştır. Dizi analizine dahil edilen 27 örnekte hADV-8 (n = 17, %63), hADV-53 (n =4, % 14.8), hADV-4 (n= 4, % 14.8), hADV-7 (n= 1, %3,7 ve hAdV-37 (n= 1, % 3,7) olmak üzere beş farklı genotip tespit edilmiştir (Tezcan Ülger S ve ark., 2019).

Çalışmamızda adenoviral keratokonjonktivit ön klinik tanısı almış ve PCR ile hADV varlığı doğrulanmış 82 konjonktival sürüntü örneğinde, jel elektroforezinde bant varlığı gözlemlenen 72 örnek (%87,8) dizi analizi çalışmasına dahil edildi. Kalan 10 örnekte PCR ürününün zayıf olması sebebiyle dizi analizi işlemi gerçekleştirilemedi. Genotip tayini yapılan 72 örnekte hADV-8 (69/72, %95,8), hADV-4 (2/72, %2,7) ve hADV-19 (1/72, %1,4) olmak üzere üç farklı genotip ortaya konuldu.

Ülkemizde oküler lezyonlarda en sık rastlanılan genotipin hADV-8 olduğu ve dağılım oranının %44,4- %100 arasında değiştiği yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Yağci R ve ark., 2010; Ersoy Y ve ark., 2012; Erdin BN ve ark., 2015). Yaptığımız çalışmada bu veriler ile uyumlu olarak %95,8 oranında hADV-8 baskın genotip olarak saptanmıştır.

hADV-8'in epidemik keratokonjonktivite etken birinci ajandır ve epitele olan tropizminin fazla olması sebebiyle ciddi klinik ve patolojik bulgulara neden olmaktadır. Birçok ülkeden bu genotipin sporadik veya nozokomiyal salgınlara yol açtığı dair yayınlar yapılmıştır. Amerika'da hastanede (Jernigan JA ve ark., 1993), Madrid'de huzurevinde (Sendra-Gutiérrez JM ve ark., 2004), Macaristan'da yedi farklı yerleşim yerinde (Reuter G ve ark., 2007), Çin'de ilkokulda (Lei Z ve ark., 2016) meydana gelen salgınlara ilişkin hADV-8'in etken olarak gösterildiği bildiriler mevcuttur.

Çalışmamızda oluşturulan filogenetik ağaç ile suşlar arasında yakınlık derecesi incelendiğinde; baskın genotipik yakınlık gözlemlenmemesi sebebiyle bir salgın analizi yapılamayacağı sonucuna vardık. Bunun yanında hastaneye aynı tarihte başvuran iki kardeşe ait konjonktival sürüntü örneğinde hADV-4 (n:2, %2,7) genotipine rastlanılmıştır ve aralarındaki baskın genotipik yakınlık tespit edilmiştir. Burada ise kardeşler arasında çapraz-bulaş gerçekleşmiş olabileceğini düşündük.

Çalışmamıza adenovirüs göz enfeksiyonu şüpheli hastaların muayenesi sonrası diğer hastalar arasında olası çapraz-bulaş riskini analiz etmek, uygulanan dezenfeksiyon prosedürleri ve personellerin eğitimini değerlendirebilmek amacıyla çevresel sürüntü örneklerini dahil ettik. Adenoviral göz enfeksiyonuna sahip hastanın muayenesi sonrası dezenfeksiyon işlemi yapılmadan alınan tüm çevresel

sürüntü örneklerinde (9/9) hADV varlığını gözlemledik. Standart dezenfeksiyon prosedürüne göre %1'lik çamaşır suyu ile yüzey alanları silinip kurumaya bırakıldıktan sonra aynı bölgelerden tekrar sürüntü örnekleri aldık ve üç yüzeyde (3/9) adenovirüs varlığının halen devam ettiğini tespit ettik. Adenovirüslerin cansız yüzeylerde 30 günü aşkın süreyle enfeksiyöz olarak kalabilmesi sebebiyle cansız yüzeylerin ve oftalmik aletlerin dezenfeksiyonun büyük önem taşıdığı vurgulanarak, personel eğitimleri ile olası nozokomiyal salgınların önüne geçebilmeyi amaçladık.

Sonuç olarak çalışmamız ilimizde ve bölgemizde oküler enfeksiyonda adenovirüslerin genotip tayini ile ilgili yapılan ilk çalışmadır. Ülkemiz göç alan ülkeler arasında olduğu için göçmenlerden gelebilecek farklı serotipler söz konusu olabilir. Bu yüzden adenovirüslere bağlı göz enfeksiyonlarının epidemiyolojisine yönelik bilgi edinmek için dinamik çalışmalara gerek duyulmaktadır.

KAYNAKÇA

Adlhock C, Schöneberg I, Fell G, Brandau D, Benzler J. Increasing case numbers of adenovirus conjunctivitis in Germany,2010. *Euro Surveill.* 2010; 15(45):19707.

Ampuero JS, Ocana V, Gomez J, Gamero M, Garcia J, Halsey ES, Laguna-Torres VA. Adenovirus respiratory tract infections in Peru. *PLoS One.* 2012; 7(10): 46898-46904.

Aoki K, Ishiko H, Konno T, Shimada Y, Hayashi A, Kaneko H, Ohguchi T, Tagawa Y, Ohno S, Yamazaki S. Epidemic keratoconjunctivitis due to the novel hexon-chimeric- intermediate 22,37/H8 human adenovirus. *J Clin Microbiol.* 2008; 45(10): 3259-69.

Aoki K, Kato M, Ohtsuka H, Ishii K, Nakazono N, Sawada H. Clinical and aetiological study of adenoviral conjunctivitis, with special reference to adenovirus types 4 and 19 infections. *Br J Ophthalmol.* 1982;66(12):776-80.

Ariga T, Shimada Y, Shiratori K, Ohgami K, Yamazaki S, Tagawa Y, Kikuchi M, Miyakita Y, Fujita K, Ishiko H, Aoki K, Ohno S. Five new genome types of adenovirus type 37 caused epidemic keratoconjunctivitis in Sapporo, Japan, for more than 10 years. *J Clin Microbiol.* 2005; 43(2):726-32.

Arnberg N. Adenovirus receptors:implications for tropism,treatment and targeting. *Rev Med Virol.* 2009; 19:165-178.

Aronson B, Aronson S, Sobel G, Walker D. Pharyngoconjunctival fever: report on an epidemic outbreak. *AMA J Dis Child.* 1956; 92(6):596-612.

Balasopoulou A, Kokkinos P, Pagoulatos D, Plotas P, Makri OE, Georgakopoulos CD, Vantarakis A. A molecular epidemiological analysis of adenoviruses from excess conjunctivitis cases. *BMC Ophthalmol.* 2017;17(1):51

Binder AM, Biggs HM, Haynes AK, Chommanard C, Lu X, Erdman DD, Watson JT, Gerber SI. Human Adenovirus Surveillance - United States, 2003-2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2017;66(39):1039-1042.

Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Medical Microbiology. 25st ed. United States: Institutional Press; 2006, p: 295-303.

Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse S. Jawetz, Melnick&Adelberg's Medical Microbiology. 26st ed. USA: McGraw-Hill Press; 2013, p: 457-465.

Buckwalter SP, Teo R, Espy MJ, Sloan LM, Smith TF, Pritt BS. Real-time qualitative PCR for 57 human adenovirus types from multiple specimen sources. J Clin Microbiol 2012; 50: 766-771.

Butt AL, Chodosh J. Adenoviral keratoconjunctivitis in a tertiary care eye clinic. Cornea. 2006;25: 199-202.

Chang C, Sheu M, Chern C, Lin K, Huang W, Chen C. Epidemic keratoconjunctivitis caused by a new genotype of adenovirus type 8 (Ad8)-a chronological review of Ad8 in Southern Taiwan. Jpn J Ophthalmol. 2001;45: 160-166.

Cheung D, Bremner J, Chan JT. Epidemic keratoconjunctivitis - do outbreaks have to be epidemic?. Eye (Lond). 2003;17(3):356-63.

Chhabra P, Payne DC, Szilagyi PG, Edwards KM, Staat MA, Shirley SH, Wikswo M, Nix WA, Lu X, Parashar UD, Vinjé J. Etiology of viral gastroenteritis in children <5 years of age in the United States, 2008-2009. J Infect Dis. 2013; 208(5):790-800.

Çakmaklıoğulları E. İnfektobezite: Adenovirusların Çocuklarda Obezitedeki Rolü. Celal Bayar Üniversitesi, . Uzmanlık Tezi, 2011, Manisa (Danışman: Prof. Dr. Ülkü ALTOPARLAK).

Echavarria M. Adenoviruses in Immunocompromised Hosts. Clin Microbiol Rev. 2008;21(4):704-715.

Echavarria M. Adenoviruses. In: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Schoub BD, Griffiths PD, Mortimer P, eds. Principles&Practice of Clinical Virology. 6 st ed. UK: Wiley-Blackwell Press: 2009, p:463-89.

Enders JF, Bell JA, Dingle JH, Francis T, et al. Adenoviruses: group name proposed for new respiratory-tract viruses. *Science*. 1956; 124:119-120.

Engler HD, J Preuss. Laboratory diagnosis of respiratory virus infections in 24 hours by utilizing shell vial cultures. *Journal Of Clinical Microbiology*. 1997; 35(8): 2165–67.

Erdin BN. Keratokonjonktivit Yapan Adenovirusların Genotip Prevalansı. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 2012, İzmir (Danışman: Prof. Dr. Ayça Arzu Sayiner).

Erdin BN, Pas SD, Durak İ, Schutten M, Sayiner AA. A 5-year study of adenoviruses causing conjunctivitis in Izmir, Turkey. *J Med Virol*. 2015;87(3):472-7.

Ersoy Y, Otlu B, Türkçüoğlu P, Yetkin F, Aker S, Kuzucu C. Outbreak of adenovirus serotype 8 conjunctivitis in preterm infants in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect*. 2012;80: 144-149.

Faden H, Wynn RJ, Campagna L, Ryan RM. Outbreak of adenovirus type 30 in a neonatal intensive care unit. *J Pediatr*. 2005; 146: 523-527.

Frantzidou F, Pavlitou A, Mataftsi A, Dumaidi K, Georgiadis N. Molecular epidemiology of adenovirus strains isolated from patients with ocular disease in the area of Thessaloniki, Greece (1998-2002). *J Med Virol*. 2005;75(3):440-6.

Fedaoui N, Ben Ayed N, Ben Yahia A, Hammami W, Matri L, Nacef L, Triki H. Molecular detection and characterization through analysis of the hexon and fiber genes of Adenoviruses causing conjunctivitis in Tunisia, North Africa. *J Med Virol*. 2017;89(2):304-312.

Ghebremedhin B. Human adenovirus viral pathogen with increasing importance. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)*. 2014; 4:26-33.

Gonzalez-Lopez JJ, Morcillo-Laiz R, Munoz-Negrete FJ. Adenoviral keratoconjunctivitis: an update. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2013;88:108-15.

Gopalkrishna V, Ganorkar NN, Patil PR. Identification and molecular characterization of adenovirus types (HAdV-8, HAdV-37, HAdV-4, HAdV-3) in an epidemic of keratoconjunctivitis occurred in Pune, Maharashtra, Western India. *J Med Virol.* 2016;88(12):2100-2105.

Gordon YJ, Gordon RY, Romanowski E, Araullo-Cruz TP. Prolonged recovery of desiccated adenoviral serotypes 5, 8, and 19 from plastic and metal surfaces in vitro. *Ophthalmology.* 1993; 100(12):1839-40.

Gray GC, McCarthy T, Lebeck MG, Schnurr DP, et al. Genotype prevalence and risk factors for severe clinical adenovirus infection, United States 2004-2006. *Clin Infect Dis.* 2007;45: 1120-1131.

Hammond GW, Hazelton PR, Chuang I, Klisko B. Improved detection of viruses by electron microscopy after direct ultracentrifuge preparation of specimens. *J Clin Mikrobiol.* 1981; 14:210-221.

Heerden JV, Ehlers MM., Grabow WO. Detection and risk assessment of adenoviruses in swimming pool water. *J Appl Microbiol.* 2005; 99:1256-64.

Hilleman MR, Werner JH. Recovery of a new agent from patients with acute respiratory illness. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1954; 85(1): 183-188.

Huang J, Kadonosono K, Uchio E. Antiadenoviral effects of ganciclovir in types inducing keratoconjunctivitis by quantitative polymerase chain reaction methods. *Clin Ophthalmol.* 2014;8:315-20.

Ishiko H, Shimada Y, Konno T, Hayashi A, Ohguchi T, Tagawa Y, Aoki K, Ohno S, Yamazaki S. Novel human adenovirus causing nosocomial epidemic keratoconjunctivitis. *J Clin Microbiol.* 2008;46: 2002-2008.

Ison MG. Adenovirus infections in transplant recipients. *Clinical Infectious Diseases* 2006; 43: 331-339.

Jhanji V, Chan TC, Li EY, Agarwal K, Vajpayee RB. Adenoviral keratoconjunctivitis. *Surv Ophthalmol.* 2015; 60(5): 435-443.

- Jernigan JA, Lowry BS, Hayden FG, Kyger SA, Conway BP, Gröschel DH, Farr BM. Adenovirus type 8 epidemic keratoconjunctivitis in an eye clinic: risk factors and control. *J Infect Dis.* 1993;167(6):1307-13.
- Jin X, Ishii A, Aoki K, Ishida S, Mukasa K, Ohno S. Detection of human adenovirus hexon antigen using carbon nanotube sensors. *J Virol Meth.* 2011; 171:405-7.
- Jin XH, Ishiko H, Nguyen TH, Ohguchi T, Akanuma M, Aoki K, Ohno S. Molecular epidemiology of adenoviral conjunctivitis in Hanoi, Vietnam. *Am J Ophthalmol.* 2006;142(6):1064-6.
- Kaneko H, Maruko I, Iida T, Ohguchi T, Aoki K, Ohno S, Suzutani T. The possibility of human adenovirus detection from the conjunctiva in asymptomatic cases during nosocomial infection. *Cornea.* 2008;27(5):527-30.
- Kinchington PR, Romanowski EG, Gordon YJ. Prospects for adenovirus antivirals. *J Antimicrob Chemother.* 2005;55:424-9.
- Kojaoghlanian T, Flomenberg P, Horwitz MS. The impact of adenovirus infection on the immunocompromised host. *Rev Med Virol.* 2003;13:155-71.
- Koneman EW. Diagnosis of Infections Caused by Viruses, Chlamydia, Rickettsia and Related Organisms. In: Winn JR, Janda W, Koneman E, et al, eds. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.* 6st ed. USA: Lippincott Williams&Wilkins Press; 2006, p: 1327-1419.
- Kowalski RP, Gordon YJ. Comparison of direct rapid tests for the detection of adenovirus antigen in routine conjunctival specimens. *Ophthalmology.* 1989;96: 1106-1109.
- Kua SC, Shen SC, Chang SW, Huang SC, Hsiao CH. Corneal superinfection in acute viral conjunctivitis in young children. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus.* 2008; 45(6):374-6.
- Lam WY, Yeung AC, Tang JW, Ip M, Chan EW, Hui M, Chan PK. Rapid multiplex nested PCR for detection of respiratory viruses. *J Clin Microbiol.* 2007; 45(11):3631-40.

Landry ML, Ferguson D. Simulfluor respiratory screen for rapid detection of multiple respiratory viruses in clinical specimens by immunofluorescence staining. *J Clin Mikrobiol.* 2000; 38(2):708-711.

Landry ML, Hsiung GD. Adenovirus-associated meningoencephalitis in a healthy adult. *Ann Neurol.* 1988; 23(6):627-8.

Lebeck MG, McCarthy TA, Capuano AW, Schnurr DP, Landry ML, Setterquist SF, Heil GL, Kilic S, Gray GC. Emergent US adenovirus 3 strains associated with an epidemic and serious disease. *J Clin Virol.* 2009; 46: 331-336.

Lee JH, Chun JK, Kim DS, Park Y, Choi JR, Kim HS. Identification of Adenovirus, Influenza Virus, Parainfluenza Virus, and Respiratory syncytial virus by two kinds of multiplex polymerase chain reaction (PCR) and a shell vial culture in pediatric patients with viral pneumonia. *Yonsei Med J.* 2010; 51(5):761-7.

Lei Z, Zhu Z, Wang BMC, Mei H, Li H, Ga DZG, Jie G, Chi MMB, Zhang S, Ma C, Xu W. Outbreaks of epidemic keratoconjunctivitis caused by human adenovirus type 8 in the Tibet Autonomous Region of China in 2016. *PLoS One.* 2017;12(9):e0185048.

Lenaerts L, De Clercq E, Naesens L. Clinical features and treatment of adenovirus infections. *Rev Med Virol.* 2008; 18:357-74.

Leppard KN. Adenoviruses:Molecular Biology. In: Mahy BWJ, Van Regenmortel MHV, eds. *Desk Encyclopedia of General Virology.* 1st ed. USA: Academic Press; 2010, p.419-26.

Li J, Lu X, Jiang B, Du Y, Yang Y, Qian H, Liu B, Lin C, Jia L, Chen L, Wang Q. Adenovirus-associated acute conjunctivitis in Beijing, China, 2011-2013. *BMC Infect Dis.* 2018;18(1):135.

Liesegang TJ. Ocular viral infections. In: Jerome KR, ed. *Lenette's Laboratory Diagnosis of Viral Infections.* 4th ed. , New York: Informa Healthcare; 2010, p:425-48.

Lion T. Adenovirus infections in immunocompetent and immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27(3):441-62.

Lu X, Erdman DD. Molecular typing of human adenoviruses by PCR and sequencing of a partial region of the hexon gene. *Arch Virol*. 2006;151: 1587-1602

Mahmood AR, Narang AT. Diagnosis and management of the acute red eye. *Emerg Med Clin N Am*. 2008; 26:35-55.

Maranhao AG, Soares CC, Albuquerque MC, Santos N. Molecular epidemiology of adenovirus conjunctivitis in Rio de Janeiro, Brazil, between 2004 and 2007. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2009; 51(4):227-9.

Martin AB, Webber S, Fricker FJ, Jaffe R, Demmler G, Kearney D, Zhang YH, Bodurtha J, Gelb B, Ni J. Acute myocarditis. Rapid diagnosis by PCR in children. *Circulation*. 1994; 90(1):330-9.

Matsui K, Shimizu H, Yoshida A, Nagaoka E, Nishio O, Okuda K. Monitoring of adenovirus from conjunctival scrapings in Japan during 2005--2006. *J Med Virol*. 2008; 80(6):997-1003.

Maxam AM, Gilbert W. A new method for sequencing DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1977;74: 560-564.

Medina-Kauwe LK. Endocytosis of adenovirus and adenovirus capsid proteins. *Adv Drug Deliv Rev*. 2003; 55:1485-96.

Meyer-Rüsenberg B, Loderstadt U, Richard G, Kaulfers P, Gesser C. Epidemic keratoconjunctivitis: the current situation and recommendations for prevention and treatment. *Dtsch Arztebl Int*. 2011; 108(27):475-80.

Mohammed A.Garout, Hani A Jokhdar, Magda R. Abelwadood. Molecular Epidemiology of Adenovirus Strains Genotypes among Patients with Acute Follicular Conjunctivitis. *American Journal of Epidemiology and Infections Disease*. 2016; 4(2):18-21.

Montone KT, Furth EE, Pietra GG, Gupta PK. Neonatal adenovirus infection: a case report with in situ hybridization confirmation of ascending intrauterine infection. *Diagn Cytopathol*. 1995; 12: 341-344.

Mueller JB, McStay CM. Ocular infection and inflammation. *Emerg Med Clin N Am.* 2008; 26:57-72.

Murray PR, Jorgensen HJ, Baron JE, Pfaller MA. *Klinik Mikrobiyoloji. Atlas Kitapçılık.*2009;2: 1589-1600.

Nakamura M, Hirano E, Kowada K, Ishiguro F, Yamagishi Z, Adhikary AK, Hanaoka N, Okabe N, Taniguchi K, Fujimoto T. Surveillance of adenovirus D in patients with epidemic keratoconjunctivitis from Fukui Prefecture, Japan, 1995-2010. *J Med Virol.* 2012; 84(1):81-6.

Naesens L, Lenaerts L, Andrei G, Snoeck R, Van Beers D, Holy A, Balzarini J, De Clercq E. Antiadenovirus activities of several classes of nucleoside and nucleotide analogues. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(3):1010-6.

Okada M, Ogawa T, Kubonoya H, Yoshizumi H, Shinozaki K. Detection and sequence-based typing of human adenoviruses using sensitive universal primer sets for the hexon gene. *Arch Virol.* 2007;152: 1-9.

Percivalle E, Sarasini A, Torsellini M, Bruschi L, Antoniazzi E, Grazia Revello M, Gerna G. A comparison of methods for detecting adenovirus type 8 keratoconjunctivitis during a nosocomial outbreak in a Neonatal Intensive Care Unit. *J Clin Virol.* 2003;28: 257-264.

Pingoud A, Alves J, Geiger R. Restriction enzymes. *Methods Mol Biol.* 1993;16:107-200.

Pinto RD, Lira RP, Arieta CE, Castro RS, Bonon SH. The prevalence of adenoviral conjunctivitis at the Clinical Hospital of the State University of Campinas, Brazil. *Clinics (Sao Paulo).* 2015; 70(11): 748-50.

Reuter G, Meleg E, Kiss G, Albert N, Fekete Z, Szûcs G. Molecular detection of adenovirus type-8 epidemic keratoconjunctivitis in Hungary. *Orv Hetil.* 2007;148(28):1311-5.

Rodríguez PH, Ramirez AG. Polymerase Chain Reaction. *InTech.* 2012; p 157.

Romanowski EG, Yates KA, Gordon YJ. The in vitro and in vivo evaluation of ddC as a topical antiviral for ocular adenovirus infections. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50: 5295-5299.

Rowe WP, Huebner RJ, Gilmore LK, Parrott RH, Ward TG. Isolation of a cytopathogenic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissue culture. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1953;84(3):570-573.

Russell WC. Update on adenovirus and its vectors. *Journal Gene Virology.* 2000: 81; 2573-2604.

Russell WC. Adenoviruses: update on structure and function. *J Gen Virol.* 2009; 90:1-20.

Rutala WA, Peacock JE, Gergen MF, Sobsey MD, Weber DJ. Efficacy of hospital germicides against adenovirus 8, a common cause of epidemic keratoconjunctivitis in health care facilities. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50: 1419-1424.

Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1977;74: 5463-5467.

Sarantis H, Johnson G, Brown M, Petric M, et al. Comprehensive detection and serotyping of human adenoviruses by PCR and sequencing. *J Clin Microbiol.* 2004;42: 3963-3969.

Sendra-Gutiérrez JM, Martín-Rios D, Casas I, Sáez P, Tovar A, Moreno C. An outbreak of adenovirus type 8 keratoconjunctivitis in a nursing home in Madrid. *Euro Surveill.* 2004; 9(3): 27-30.

Schmitz H, Wigand R, Heinrich W. Worldwide epidemiology of human adenovirus infections. *Am J Epidemiol.* 1983;117: 455-466.

Sdiri-Loulizi K, Gharbi-Khélifi H, de Rougemont A, Chouchane S, Sakly N, Ambert-Balay K, Hassine M, Guédiche MN, Aouni M, Pothier P. Acute infantile gastroenteritis associated with human enteric viruses in Tunisia. *J Clin Microbiol.* 2008;46(4):1349-55.

Singh MP, Ram J, Kumar A, Rungta T, Gupta A, Khurana J, Ratho RK. Molecular epidemiology of circulating human adenovirus types in acute conjunctivitis cases in Chandigarh, North India. *Indian J Med Microbiol.* 2018;36(1):113-115.

Suat Biçer S, Gülhan Tunca G, Koncay B, ve ark. Çocuklarda adenovirüs gastroenteriti olgularının sıklığı. *Bakırköy Tıp Dergisi* 2009; 5:6-10.

Sundaramoorthy R, Dhodapkar R, Kaliaperumal S, Harish BN. Outbreak of Adenovirus serotype 8 keratoconjunctivitis in Puducherry, South India: a molecular epidemiological study. *J Infect Dev Ctries.* 2016;10(4):449-52.

Swenson PD, Lowens MS, Celum CL, Hierholzer JC. Adenovirus types 2, 8, and 37 associated with genital infections in patients attending a sexually transmitted disease clinic. *J Clin Microbiol.* 1995; 33(10): 2728– 2731.

Tabbara KF, Omar N, Hammouda E, Akanuma M, Ohguchi T, Arig T, Tagawa Y, Kitaichi N, Ishida S, Aoki K, Ishiko H, Ohn S. Molecular epidemiology of adenoviral keratoconjunctivitis in Saudi Arabia. *Molekuler vision.* 2010; 24(16):2132-6.

Takiff HE, Straus SE, Garon CF. Propagation and in vitro studies of previously non-cultivable enteral adenoviruses in 293 cell. *Lancet.* 1981; 2(8251):832-834.

Tezcan Ülger S, Bekçi A, Yılmaz A, Aslan G. Detection and molecular characterization of human adenoviruses from acute conjunctivitis cases. *Microbiyol Bul.* 2019;53(3):297-307.

Ustaçelebi Ş, Us D. Genel Viroloji. 2. Baskı. Ankara. Pelikan Yayıncılık; 2008.

Wang W, Liu Y, Zhou Y, Gu L, Zhang L. Whole-genome analyses of human adenovirus type 55 emerged in tibet, sichuan and yunnan in china, in 2016. *PLoS One.* 2017; 12: e0189625

Waye M.M.Y, Sing C.W. Anti-Viral Drugs for Human Adenoviruses. *Pharmaceuticals.* 2010; 3(10): 3343-3354.

Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect.* 2003;9: 247-262

Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M editörler. Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi. 3. Baskı. Nobel Tıp Kitapevleri. 2008; p: 1696-1700.

Wold WS, Toth K. Adenovirus vectors for gene therapy, vaccination and cancer gene therapy. *Curr Gene Ther.* 2013; 13: 421-433.

Wölfel R, Pfeffer M, Essbauer S, Nerkeun S, Dobler G. Evaluation of sampling technique and transport media for the diagnostics of adenoviral eye infections. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2006;244:1497-1504.

Xu W, Erdman DD. Type-specific identification of human adenoviruses 3,7, and 21 by a multiplex PCR assay. *J Med Virol.* 2001; 64(4): 537-542.

Van Doornum GJ, De Jong JC. Rapid shell vial culture technique for detection of enteroviruses and adenoviruses in fecal specimens: comparison with conventional virus isolation method. *Journal Of Clinical Microbiology.* 1998; 36(10):2865–2868.

Van Heerden J, Ehlers MM, Grabow WO. Detection and risk assessment of adenoviruses in swimming pool water. *J Appl Microbiol* 2005; 99: 1256-1264.

Van Rij G, Klepper L, Peperkamp E, Schaap GJ. Immune electron microscopy and a cultural test in the diagnosis of adenovirus ocular infection. *Br J Ophthalmol,* 1982; 66(5):317-9.

Yağci R, Akçali A, Yağci S, Konno T, Ishiko H, Duman S, Ozkaya E. Molecular identification of adenoviral conjunctivitis in Turkey. *Eur J Ophthalmol.* 2010;20: 669-674. *Eur J Ophthalmol.* 2010;20: 669-674.

Zuckerman AJ, Banatvala JE, Schoub BD, Griffiths PD, Mortimer P. Adenoviruses. *Principles and Practice of Clinical Virology.* 6 st ed. UK: Wiley-Blackwell Press: 2009, p: 343-360.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onay Formu



T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Etik Kurulu

PROJENİN ADI : Keratokonjonktivit Ön Tanılı Hastalardan İzole Edilen Adenovirüs Suşlarının Alt Tiplendirmesi

PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ: Prof. Dr. Ayşegül KARAHASAN

PROJEDEKİ ARAŞTIRICILAR : Ayfer GÜNER

ONAY TARİHİ VE ONAY SAYISI: 14.01.2019-09

Sayın; Prof. Dr. Ayşegül KARAHASAN

09 protokol nolu "Keratokonjonktivit Ön Tanılı Hastalardan İzole Edilen Adenovirüs Suşlarının Alt Tiplendirmesi" isimli projeniz Enstitümüz Etik Kurulu tarafından incelenmiş ve etik yönden uygunluğuna karar verilmiştir.

Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU
Komisyon Başkanı

Doç.Dr. İlkan DEMİRBÜKEN

Prof. Dr. Dilşad SAVAŞ

Prof.Dr. Betül AŞCI

Prof.Dr. Tuğba TUNALI AKBAY

Prof.Dr. Nefise BAHÇECİK

Prof.Dr. Hakkı ARIKAN

Doç.Dr. M. Ömür UĞURLU

Doç.Dr. Bethül OKUYAN

Av. Funda İŞİK

Av. Öncel Onur AKBAŞ



Marmara Üniversitesi Geliştirme
Kampanyası Sağlık Hizmetleri
Enstitüsü Sağlık Bilimleri
ENSTİTÜSÜ

0 (216) 444 44 23/12 (Faks)
0 (216) 444 44 25

saqlik.eprens@mmu.edu.tr
http://saqlik.marmara.edu.tr

Ayşe Gül İnce
Sekreter
TIRIS.MENEMGLU

Ek 2. Sözlü Sunum



5. ULUSAL KLİNİK MİKROBİYOLOJİ KONGRESİ



Sayın Ayfer Güner,

28 Ekim - 1 Kasım 2019 tarihleri arasında Tepekule Kongre ve Sergi Merkezi, Bayraklı - İZMİR de düzenlenecek olan **"5. ULUSAL KLİNİK MİKROBİYOLOJİ KONGRESİ "** kapsamında **"ADENOVİRAL KERATOKONJONKTİVİT ÖN TANILI HASTALARDAN İZOLE EDİLEN ADENOVİRÜS SUŞLARININ ALT TİPLENDİRİLMESİ ÇALIŞMASI ÖN SONUÇLARI"** başlıklı bildirinizi Bildiri Değerlendirme Komisyonu tarafından değerlendirilerek **SÖZLÜ** bildiri olarak kabul edilmiştir.

Bildiri programı ile ilgili detaylar en kısa sürede <http://www.klimud2019.org/> adresinden yayınlanacak olup, web sitemizi takip etmenizi rica ederiz.

Sözlü bildiri sunumu için ayrılan süre **5 dakikadır**. Sunumuzu aşağıdaki linkte verilen şablona göre hazırlamanızı ve slayt sayısını **arttırmamanızı** önemle rica ederiz.

<http://klimud2019.com/wp-content/uploads/2019/07/S%C3%B6zl%C3%BC-Sunum-%C5%9Eablonu.ppt>

Sözlü bildiri sunumları, sunum zamanından en geç 2 saat önce sunum kontrol odasındaki bilgisayara aktarılmış olmalıdır.

Kongremize verdiğiniz destek ve katkılarınızdan dolayı teşekkürlerimizi sunarız.

İzmir'de görüşmek üzere, çalışmalarınızda başarılar dileriz.



Prof. Dr. Berrin ESEN
KLİMUD Başkanı
Kongre Başkanı



www.klimud2019.org Tepekule Kongre ve Sergi Merkezi, Bayraklı – İZMİR 28 Ekim 2019 - 01 Kasım 2019

Ek 3 Poster Bildirisi



Basel, 22 January 2020

Dear ayfer güner,

Abstract number: 4147

Title: *Subtyping of adenovirus strains isolated from pre-diagnosed patients with keratoconjunctivitis*

Thank you for having submitted your work to ECCMID, 18 – 21 April 2020, Paris, France. The ECCMID 2020 Programme Committee is pleased to inform you that the above-mentioned abstract has been allocated to the following Paper Poster session:

Poster number: P2775
Session title: Viral epidemiology
Session number: PS126
Session date: 20.04.2020
Session time: 13:30:00-14:30:00
Mounting time: 08:00:00-09:00:00
Removal time: 17:00:00-18:15:00
Location: Paper Poster Area

Please find all technical information regarding your session on our [website](#). Presenting Author changes must be emailed to eccmidabstracts@escmid.org. Kindly note that only authors of the abstracts can become presenting author. The author list cannot be changed anymore, however removing authors is possible. Please contact the office for help.

Ek 3. Özgeçmiş

Adı	AYFER	Soyadı	GÜNER
Doğum Yeri	Sivas	Doğum Tarihi	12.01.1996
Uyruğu	TC	Tel	0534 956 27 16
E-mail	ayferguner5@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi/ Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	2020
Lisans	İstanbul Üniversitesi/ Moleküler Biyoloji ve Genetik (Yandal)	2017
	İstanbul Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2017

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	İyi	İyi	iyi

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	71,9		

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Word	Çok iyi
Excel	Çok iyi
PowerPoint	Çok iyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendiriniz.