

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ - CERRAHPAŞA
ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ

Danışman

Prof.Dr. Gökhan AYGÜN

**EL MİKROBİYOTASININ KİŞİLERİN TANIMLANMASINDA KULLANILMASINI
SAĞLAYACAK YENİ BİR METODUN GELİŞTİRİLMESİ**

FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

SEDA SALMAN YILMAZ

İSTANBUL - 2019

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ - CERRAHPAŞA
ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ

Danışman

Prof.Dr. Gökhan AYGÜN

**EL MİKROBİYOTASININ KİŞİLERİN TANIMLANMASINDA
KULLANILMASINI SAĞLAYACAK YENİ BİR METODUN GELİŞTİRİLMESİ**

FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

SEDA SALMAN YILMAZ

İSTANBUL - 2019

İstanbul, 21 Haziran 2019

**İ.Ü.ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA**

Lisansüstü Öğretim Yönetmeliğinin 50.maddesi uyarınca Enstitünüz Fen Bilimleri Anabilim Dalı'nın doktora öğrencisi Seda SALMAN YILMAZ'ın,

“El Mikrobiyatasının Kişilerin Tanımlanmasında Kullanılmasını Sağlayacak Yeni Bir Metodun Geliştirilmesi”

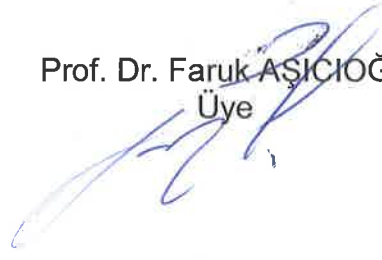
Adlı tezi jürimizce tetkik edilmiş ve kendisine tez savunması yaptırılmıştır.

Yukarıda adı geçen tezin ve tez savunmasının kabul edilmesine oy birliğiyle karar verilmiştir.

Prof. Dr. Gökhan AYGÜN
Jüri Başkanı
Danışmanı



Prof. Dr. Faruk AŞICIOĞLU
Üye



Doç. Dr. Hüseyin ÇAKAN
Üye



Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül KUŞKUCU
Üye



Dr. Öğr. Üyesi İtir ERKAN
Üye





Bu tez projesi İ.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 28100

İTHAF

Değerli oğlum Emir'e...



TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Adli Tıp Enstitüsü'nde doktora eğitimime imkan sunan Enstitüsü Müdürü **Prof.Dr. Faruk AŞICIOĞLU**'na ve Fen Bilimleri Anabilim Dalı Başkanı **Prof.Dr. Münevver AÇIKKOL**'a,

Eğitim hayatım boyunca, engin bilgi ve tecrübeleri ile beni yönlendiren, yetiştiren, hiçbir konuda desteğini esirgemeyen, ümitsizliğe düştüğüm anlarda kendisinden büyük destek aldığım, birlikte çalışmaktan mutluluk ve onur duyduğum çok kıymetli tez danışmanım **Prof.Dr. Gökhan AYGÜN**'e

Doktora eğitimimden itibaren üzerimde çok büyük emeği olan, her zaman değerli vaktini bana ayıran ve hiçbir zaman desteğini, deneyimlerini esirgemeyen, bilimsel çalışma disiplinini, azmini ve yüksek insani vasıflarını örnek aldığım; çok değerli hocam **Doç.Dr. Hüseyin ÇAKAN**'a,

Tezime katkıda bulunan, deneyimlerini ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen **Dr.Öğr.Üyesi Ayşegül KUŞKUCU** ve **Uzm.Dr. Mert Ahmet KUŞKUCU**'ya,

Bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, çalışma ve öğrenim hayatım boyunca büyük desteğini gördüğüm, **Doç.Dr. Selçuk DAŞDEMİR**'e

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Adli Tıp Enstitüsü çalışanlarına ve tezimin her aşamasında destek ve sevgisiyle her zaman yanımda hissettiğim Fen Bilimleri Anabilim Dalı Sekreteri **Sn. Elvan EMRAL UĞUR**'a

Çalışma hayatım boyunca hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum **Murat POLAT**, **M.Buğrahan DÜZ**, **Uğur GÜMÜŞ**, **Ezgi Elif ZOZİK**, **Ebru KORKMAZ**, **Gökçe KUMBASAR**, **Gizem ERDOĞAN**, **Mehmet Can ÇAKIN** ve **Nida AYDIN**, **Muhammed AYDIN**, **Nişen GÜNEY**, **Tuba SOYSAL MUMCU**, **Orhan YATMAZ**'a

Büyük bir özveriyle beni bugünlere getiren, her zaman yanımda olan sevgili **anneme** ve hayatımın her aşamasında her zaman yanımda olan değerli **aileme**,

Üzüntü ve sevincimi paylaştığım, her anımda en büyük destekçim, değerli eşim **Abdullah YILMAZ**'a ve ona ayıracağım kıymetli zamandan feragat etmek zorunda kaldığım hayat kaynağım oğlum **Emir YILMAZ**'a minnetle teşekkür ederim.

Seda SALMAN YILMAZ

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	İ
TABLolar DİZİNİ.....	İV
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	V
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	VI
ÖZET	Vİİ
ABSTRACT	Vİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Olay Yeri İnceleme.....	3
2.2. Delillerin Sınıflandırılması	5
2.2.1. Beyan Delil	5
2.2.2. Maddi (Fiziksel) Delil.....	5
2.2.2.1. Biyolojik deliller	5
2.2.2.2. Kimyasal Deliller	5
2.2.2.3. Fiziksel deliller	6
2.2.2.4. İz deliller	6
2.3. Adli Bilimlerde Kimliklendirme ve Önemi	6
2.4. Parmak İzi İncelemeleri.....	7
2.4.1. Parmak İzini Etkileyen Faktörler	10
2.5. Adli Bilimler ve Mikrobiyoloji.....	11
2.5.1. Biyolojik Savaş.....	12
2.5.2. Biyolojik Suç	13
2.5.3. Besin Zehirlenmeleri	13
2.5.4. Postmortem İncelemelerde Mikrobiyoloji.....	13
2.5.5. Güncel Gelişmeler	14
2.6. Mikrobiyota	15
2.7. Adli Bilimlerde Mikrobiyota	20
2.8. Mikrobiyota Tespit Yöntemleri	21
2.8.1. Ribotiplendirme:	22
2.8.1.1. Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi (RFLP):.....	22

2.8.1.2. PFGE ile Restriksiyon Enzim Analizi	24
2.8.2. MLST (Multiple Locus Sequence Typing) :	25
2.8.3. Variable Number Tandem Repeats (VNTR)	25
2.8.4. Dizileme.....	26
2.8.4.1. Klasik DNA Dizi Analizi Yöntemleri	27
2.8.5. Yeni Nesil Dizileme	28
2.9. Biyoinformatik Data Analizi	30
2.10. Filogenetik Analiz ve Filogenetik Ağaç Oluşturma	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
3.1. Materyal Temini	34
3.2. Materyal Özellikleri.....	34
3.3. Kullanılan Kit, Kimyasal ve Cihazlar.....	36
3.3.1.1. Kültürde kullanılanlar:.....	36
3.3.2. Metodun Uygulanması.....	37
3.3.2.1. Kültür Aşaması	37
3.3.2.2. DNA İzolasyonu	37
3.3.2.3. PCR Aşaması	38
3.3.3. RFLP.....	40
3.3.4. Jel Hazırlama ve Görüntüleme	41
3.3.5. Jel Analizi	42
3.3.6. Filogenetik analiz.....	44
4. BULGULAR	45
4.1. Kişilerin El Mikrobiyotasına Ait 16S Bölgesinin Filogenetik Analizi.....	45
4.2. Kişilerin El Mikrobiyotasına Ait 23S Bölgesinin Filogenetik Analizi.....	48
4.3. Kişilerin El Mikrobiyotasına Ait <i>S. epidermidis</i> 'in VNTR Reaksiyonlarının Filogenetik Analizi	51
4.4. Kişilerin El Mikrobiyotasına Ait 16S, 23S ve <i>S. epidermidis</i> 'in VNTR Reaksiyonlarının Filogenetik Analizi.....	54
4.5. Kişisel Bilgisayarların Klavye Örnekleri ile El Mikrobiyota Örneklerinin 16S Bölgesi için Filogenetik Analizi.....	57
4.6. Kişisel Bilgisayarların Klavye Örnekleri ile El Mikrobiyota Örneklerinin 23S Bölgesi için Filogenetik Analizi.....	59
4.7. Kişisel Bilgisayarların Klavye Örnekleri ile El Mikrobiyota Örneklerinin <i>S.</i> <i>epidermidis</i> 'in VNTR Bölgeleri için Filogenetik Analizi	61

4.8. Kişisel Bilgisayarların Klavye Örnekleri ile El Mikrobiyota Örneklerinin 16S, 23S ve <i>S. epidermidis</i> 'in VNTR Bölgeleri için Filogenetik Analizi	63
4.9. Kişilerin El Mikrobiyota Örneklerinde Benzerlik Oranlarının Değerlendirilmesi	65
4.10. El Mikrobiyota Örneklerinin Kişilerin Buldukları Ortamlara Göre Değerlendirilmesi	66
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	68
KAYNAKLAR	77
EK-1 ETİK KURUL KARARI	88
EK-2 GÖNÜLLÜ ONAM FORMU	89
ÖZGEÇMİŞ	93



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Palindrom diziler	23
Tablo 2: Çalışma grubuna ait özellikler	35
Tablo 3: PCR reaksiyolarında kullanılan primer dizileri.....	38
Tablo 4: PCR uygulaması için bileşenler ve miktarları.....	39
Tablo 5: PCR uygulaması için gerekli thermal cycler protokolü	39
Tablo 6: RFLP uygulaması için bileşenler ve miktarları.....	40
Tablo 7: RFLP uygulaması için gerekli thermal cycler protokolü	40
Tablo 8: Bir numaralı kişinin, VNTR jel analizi	43



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Parmak izinde papil ve por bölgelerinin gösterimi.....	9
Şekil 2: Sağlıklı insana ait mikrobiyom haritası	16
Şekil 3: İnsan mikrobiyomunu etkileyen faktörler	18
Şekil 4: Cilt mikrobiyotasını etkileyen faktörler.....	19
Şekil 5: Restriksiyon endonükleazlar ile kesilen DNA parçalarının gösterimi	24
Şekil 6: Farklı sayıda ve ardışık şekilde tekrarlayan VNTR dizileri	26
Şekil 7: Kapiller jel elektroforezde yürütülen DNA fragmanlarının sanger yöntemiyle dizilenmesi.....	28
Şekil 8: Köklü filogenetik ağaç çizimi.....	32
Şekil 9: Köksüz filogenetik ağaç çizimi	32
Şekil 10: Sıvı besiyeri (a), Sağ işaret parmağından örnek alımı (b), Sıvı besiyerinin parmak yüzeyine teması (c)	34
Şekil 11: 1. Gün S1, S2, S3 örneklerinin HINDIII enzimi ile 16S ve 23S gen bölgelerinin kesimi	41
Şekil 12: <i>S.epidermidis</i> 'e ait 10 bireyin, 3a (SE-1) reaksiyonunun VNTR görüntüsü	41
Şekil 13: Kişilerin el mikrobiyotasına ait 16S bölgesinin filogenetik dendogramı	47
Şekil 14: Kişilerin el mikrobiyotasına ait 23S bölgesinin filogenetik dendogramı	50
Şekil 15: Kişilerin el mikrobiyotasına ait <i>S. epidermidis</i> 'in VNTR reaksiyonlarının filogenetik dendogramı.....	53
Şekil 16: Kişilerin el mikrobiyotasına ait 16S, 23S ve <i>S. epidermidis</i> 'in VNTR reaksiyonlarının filogenetik dendogramı.....	56
Şekil 17: Kişisel bilgisayarlardan alınan klavye örnekleri ile el mikrobiyota örneklerinin 16S bölgesi için filogenetik dendogramı	58
Şekil 18: Kişisel bilgisayarlardan alınan klavye örnekleri ile el mikrobiyota örneklerinin 23S bölgesi için filogenetik dendogramı	60
Şekil 19: Kişisel bilgisayarlardan alınan klavye örnekleri ile el mikrobiyota örneklerinde <i>S. epidermidis</i> VNTR için filogenetik dendogramı.....	62
Şekil 20: Kişisel bilgisayarlardan alınan klavye örnekleri ile el mikrobiyota örneklerinde 16S, 23S ve <i>S.epidermidis</i> VNTR için filogenetik dendogramı	64
Şekil 21: Kişilerin El Mikrobiyota Örneklerinin 'PRIMER V7'de Benzerlik Oranlarının Değerlendirilmesi.....	65
Şekil 22: El Mikrobiyota Örneklerinin Kişilerin Buldukları Ortamlara Göre 'Bray-Curtis' Benzerlik Analizinde Değerlendirilmesi.....	66
Şekil 23: El Mikrobiyota Örneklerinin Kişilerin Buldukları Ortamlara Göre 'Mega' Benzerlik Analizinde Değerlendirilmesi	67

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

BAM : Binary Alignment Map
CHEF: Contour-clamped Homogeneous Electric Field
CMK : Ceza Muhakemesi Kanunu
ddNTP : Dideoksinükleotidler
dNTP : Deoksinükleotitfosfatlar
EDNAP : The European DNA Profiling Group
FBI : Federal Soruşturma Bürosu
FIGE : Field-Inversiyon Gel Electrophoresis
FM : Fitch-Morgoliash
HIV : Human Immunodeficiency Virus
HPV : Human Papilloma Virus
İMP : İnsan Mikrobiyom Projesi
ML : Maksimum Likelihood
MLST : Multiple Locus Sequence Typing
MP : Maximum Parsimony
NJ : Neighbour Joining
PCR : Polymerase Chain Reaction
PFGE : Pulsed-Field Gel Electrophoresis
RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism
rRNA : ribozomal RNA
SAM : Sequence Alignment/Map
SNP : Single Nucleotide Polymorphism
TDT : Terminal Deoksinükleotid Transferaz
UPGMA : Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
VNTR : Variable Number Tandem Repeat
YND : Yeni Nesil Dizileme
WES : Whole Exome Sequencing
WGS : Whole Genome Sequencing

ÖZET

Adli bilimlerde soruşturmanın en önemli bölümü olay yeri incelemesidir. Olay yerinde elde edilen bulguların delil niteliği taşımasıyla soruşturma netleştirilir. Delilin bozulması halinde ya da delil yetersizliğinde soruşturma sonuçlandırılmaz. Ancak adli bilimlerin multidisipliner bir alan olması delili suç ile ilişkilendirmede çoğu zaman olanak sağlar.

Adli mikrobiyolojik çalışmalar, olay yerinin en önemli delillerinden DNA ve parmak izinin yeterli olmadığı durumlarda görünmeyen delil özelliğindeki mikroorganizmaların karakterizasyonu aracılığıyla suçlunun belirlenmesine olanak sağlayabilmektedir.

Son zamanlarda mikrobiyota üzerine yapılan araştırmalar vücutta tüm bölgelerin kendine ait bir mikrobiyotaya sahip olduğunu göstermekte ve kişinin el mikrobiyotasının da karakteristik özellikler taşıdığını belirtmektedir. El mikrobiyotası kişinin yaşam şekli, bulunduğu coğrafya, mesleği ya da antiseptik kullanımı gibi etkileyebilecek faktörlere rağmen, kişiye özgü bir profil oluşturmaktadır. Bu sebeple bireylerin çevresel yüzeylere bulaşan örneklerinin kime ait olduğunun ayırımında el mikrobiyotası kritik rol oynamaktadır.

Projemizde erişkin 10 farklı bireyden 10 gün boyunca toplanan örneklerden elde edilen mikrobiyotalarında 16S, 23S gen bölgelerinin ribotiplendirmesi ve *S.epidermis*'e ait VNTR analizi değerlendirilmiştir. Ayırında benzerlik oranları, ortak çalışma alanlarında kümelenme, cansız yüzeylerle temas eden kişileri tanımlayabilme yeteneği değerlendirilmiştir. Ayırım gücünü artırma amacıyla birlikte değerlendirilen verilerde 12 küme ayırımı sağlanmıştır. Bununla birlikte kişiler arası benzerlik oranı en fazla %77.14 tespit edilirken, en az benzerlik oranı %31.74 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca iki farklı grup olan kişilerin el mikrobiyota örnekleri kendilerine ait çalışma ortamları ile uyumluluk göstererek iki farklı grup ayırımı sağlanabilmiştir.

Çalışmamız, el mikrobiyota örneklerinin kişilerin yaşam şekli, mesleği, el yıkama özelliği gibi etkenlere rağmen çekirdek mikrobiyota özelliğini koruduğu, bulunduğu ortamda ve temas ettiği yüzeylerde bu izleri taşıdığını göstermiştir. Kişiye özgü olan ve değişmeyen el mikrobiyotasını adli bilimlerde suçla ilişkili kişilerin tanımlanmasında ve kapsama/dışlamada katkı sağlayarak olayların aydınlatılmasında değerli olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Adli bilimler, mikrobiyota, ribotiplendirme, *S.epidermidis*

ABSTRACT

The most important part of the forensic research is the crime scene investigation. The investigation is clarified by the evidence obtained at the scene. If the evidence is corrupted or there is insufficient evidence, the investigation cannot be concluded. However, the fact that forensic sciences are a multidisciplinary field often provides the opportunity to associate evidence with crime.

In forensic microbiology which is one of the sub-branches of forensic sciences, it is very substantial to identify microorganisms in order to determine the culprit. In cases where DNA and fingerprint which are the most important findings of incidence is not sufficient, microorganisms as invisible evidence can be identified and clarification can be provided.

Recently, researches on microbiota indicate that all regions have a microbiota of their own and that the hand microbiota also has characteristic features. The hand microbiota forms a personal profile, despite the factors that may affect it such as lifestyle, geography, profession, or antiseptic use. Therefore, hand microbiota plays a critical role in distinguishing individuals who have samples on environmental surfaces.

In our project, ribotyping of 16S, 23S gene regions and VNTR analysis of *S.epidermidis* in microbiota obtained from 10 different individuals collected for 10 days were evaluated. Similarity ratios in the distinction, clustering in common study areas, ability to identify people in contact with inanimate surfaces were evaluated. In order to increase the power of discrimination, 12 clusters were obtained. However, the rate of interpersonal similarity was found to be 77.143%, while the least similarity rate was 31.746%. In addition, two different groups of people with hand-held microbiota examples of their work environment compatible with two different groups can be distinguished.

Our study showed that hand microbiota samples retain their core attributes in spite of factors such as life style, occupation and hand washing characteristics, and they carry these traces in the environment and contact surfaces. It has been shown that personal and unalterable hand microbiota is valuable in identifying crime-related persons in forensic sciences and contributing to coverage/exclusion.

Key words: Forensic Sciences, microbiota, ribotyping, *S.epidermidis*

1. GİRİŞ ve AMAÇ

İnsan Mikrobiyom Projesi, 2007 yılında başlamış ve ön sonuçları vücutta tüm bölgelerin kendine ait bir mikrobiyotaya sahip olduğunu göstermiştir. Bu özel mikrobiyota bölgeleri; bağırsak, ağız boşluğu, solunum yolu, cilt ve ürogenital bölge olarak tanımlanmıştır. Son zamanlarda yapılan araştırmalar, bu özel mikrobiyota alanlarının kişinin ırk ve etnik kökeni ile de yakından ilişkili olduğunu göstermiştir. Hatta kişinin yaşam şekli, bulunduğu coğrafya ya da beslenme şekli ile bu mikrobiyota kişiye özgü bir yapı oluşturmaktadır (1).

Kişinin el mikrobiyotasının karakteristik özellikler taşıması, çevresel yüzeylere bulaşan örneklerin kime ait olduğunu ayırma kritik rol oynamaktadır (2). Bu bilgiler ışığında insanların, cildinden yüzeylere aktarılan mikrobiyotanın, parmak izlerine benzer şekilde adli tanımlamada rol alabileceği üzerinde durulmaktadır (3). Kişisel cilt mikrobiyotasının yüzeylere aktarılması, bireyselliği ve bu izlerin adli tanımlamada kullanılma potansiyelini mikrobiyal ‘parmak izi’ olarak adlandırılmaktadır (4). Bilgisayar klavyelerinde, cep telefonlarında ve ev içi dokunulan yüzeylerde bırakılan izlerle mikrobiyota özelliklerinden bireylerin tanımlanabileceği gösterilmiştir (5-8).

Olay yerinden alınan mikroorganizmaların yapısı, popülasyonu, genetik yapısı ve filogenetik verileri adli bilimlerde önem taşımaktadır. Mikroorganizmaya ait DNA'nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR: Polymerase Chain Reaction) tekniği ile çoğaltılan hedef bölgelerin başında 16S ve 23S rRNA (ribozomal RNA) gelmektedir. Bu bölgeler çok iyi korunmuş ve her türe göre değişen dizilere sahiptir. Bakteriyi tanımlama ve karakterizasyonunu belirleyen ‘Ribotiplendirme’ yöntemi filogenetik analiz için kullanılan bir moleküler tekniktir. Çoğu zaman türleri birbirinden ayırmada yeterli olsa da, çok yakın ilişkili türleri birbirinden ayırmaya yeterli olmayabilir. Bu durumda ayırım gücünün daha yüksek olduğu bilinen ‘Variable Number Tandem Repeat’ (VNTR) yöntemiyle tanımlama yapılmaktadır. Mikrobiyal ajanın genetik yapısının belirlenmesi mikrobiyal delillerin ve referans örneklerin genetik profilinin ortaya konulması örneklerin kaynağının belirlenmesini, örnekler arası karşılaştırma, kapsama veya dışlama ayırımı yapılmasını sağlamaktadır (9,10).

Mikrobiyal genom yöntemlerinin rutin uygulamaya geçmesini sağlayacak çalışmalar, adli bilimlerde suç olaylarının aydınlatmasına katkı sağlayacaktır. Kullanılan

yöntemlere göre çalışmanın kısa sürede sonuçlanması, düşük maliyetli, kolay uygulanabilir ve tekrarlanabilir olması en önemli avantajlarıdır. Bu konu ile ilgili ucuz, kolay ve ayırım yapabilen bir yöntemin literatürde ilk defa gösterilecek olması ve gelecek çalışmalara katkı sağlaması projemizin özgün değerini artırmaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

İnsan davranışıyla ortaya çıkabilen her türlü adli sorunun çözülmesi ve aydınlatılması gerekir. Adalet sistemi hukuka uygun çalışarak, adli vakaların aydınlatılmasında olay yerinden toplanan fiziksel delillere ihtiyaç duyar (11). Adli soruşturmada olay yerinden toplanan delillerin değerlendirilmesi ve yorumlanması için farklı bilim dallarına ihtiyaç duyulur. Bilimin hukuka uygun, adalet için yorumlanıp birden fazla alanda değerlendirmesi genel anlamda “Adli Bilimler” olarak tanımlanır. Temel olarak fen bilimleri, sosyal bilimler ve tıp alanları altında adli tıp, adli patoloji, adli psikiyatri, adli antropoloji, adli biyoloji, adli genetik, adli toksikoloji ve adli entomoloji gibi farklı bilim dalları yer alır. Adli bilimlerin dalları birbirinden farklı olsa da hemen hemen her olayda birbirinden keskin çizgilerle ayırmak mümkün olmayabilir (12,13).

Adli vakanın temel unsurları olay yeri, fail ve mağdurdur. Adli bilimler esas olarak olay yerinde başlar. Suçun meydana geldiği olay yerindeki delillerin incelenmesiyle, failin mağdurla olan ilişkisini açıklar. Soruşturmanın devamı ve suçun aydınlatılabilmesi için olay yerindeki delillerin toplanması ve incelenmesi esastır (12,14).

2.1. Olay Yeri İnceleme

İnsanın davranışı veya çeşitli doğa olaylarının sonucunda ortaya çıkan her türlü hadiseye olay denir. Suç, kanunda suç olarak belirtilen fiil ve hareketlerin belirli bir zaman içerisinde, belirli bir mekan veya mekanlarda gerçekleşmesidir (15,16). Bazen suç bir yerde başlayıp, farklı yerlerde gelişebilir, bu süreçte failin gidebileceği tüm yerler geniş ve dinamik bir alan oluşturur (17).

Olay yeri incelemesi suçluyu ve masumu açığa çıkarma amacıyla yapılır. Olayın ve suçun aydınlatılması, buna bağlı failerin adalete teslim edilmesinde bilimsel ve teknolojik imkanlarla multidisipliner çalışma gerektirir. Ceza Muhakemesi Kanunu'nun (CMK) 160. maddesinde sadece şüphelinin aleyhine değil, lehine de delil toplama, şüphelinin haklarını koruma yükümlülüğü belirtilmiştir. Bir vakada suç işlenip kaza süsü verilerek cinayet/intihar ayırımı olay yeri incelemesinde alınan örneklerin incelenmesi ile sağlanır. Olay yerinden alınan bulgular, bilimsel ve teknolojik yöntemlerle incelenerek bu bulgulara delil özelliği kazandırılmaktadır. “Failin delil yetersizliğinden beraatına, tahliyesine, duruşmanın ertelenmesine” gibi ifadeler sıklıkla rastlanılan, davaları uzatan bazen yanlış kararlarla sonuçlanmasına sebep olabilen hükümlerdir. Bu gibi durumlar, olay yerinden alınan bulgular

ve bu bulguların delile dönüşmesiyle giderilebilir. Bulgu, olay yerinden alınan, olayla ilişkisinin henüz netleşmediği, hukuki netlik kazanmadığı her türlü materyal, iz, belge olarak tanımlanır. Delil, suç fiilinin ispatı, suçun aydınlatılmasını sağlayan, fail, mağdur ve olay yeri arasındaki ilişkiyi açıklayan her türlü kaynak olarak tanımlanır. Bu nedenle, olay yerinin önemle incelenmesi, suç soruşturmasının ve suçun aydınlatılmasının en önemli aşamasıdır (18).

Bin dokuz yüzlü yıllarda yaşamış olan ve adli bilimlerin öncüsü olarak bilinen Fransız Edmond Locard, “Her temas, bir iz bırakır” diyerek adli bilimlerin temel prensibini kesin ve net bir şekilde ifade etmiştir. Kişi nerede bulunursa bulunsun üzerinde, bulunduğu yerle ilgili delil taşıyabileceğini ileri sürmüştür. Locard prensibi, iki nesnenin temasında mutlaka bir maddeden diğerine aktarım sağlandığını belirtir. Locard prensibinde temel olarak; olay yerindeki delilin mağdur ve şüpheli arasındaki madde alışverişinin önemini açıklamaktadır. Bu prensip adli bilimler için olay yerinin ve olay yerinden alınan delillerin ne kadar önemli olduğunu ifade eder (12,19).

Olay yerinde suçlu ve mağdur arasında, hırsızlık yaşandıysa kapı veya pencerede alet izi veya parmak izi, tecavüz ve istismar olaylarında mağdurun üzerinde biyolojik materyal, boğuşma sırasında mağdurun tırnak altında şüpheliye ait cilt örneği, kazaya karışan araçlar arasında boya aktarımı, ateşli silah olaylarında barut artıklarını tespit etmek gibi birçok olayda delil aktarımı tespit edilir (20).

Olay yerinden alınan delil niteliği taşıyan bulgular, adli teknolojinin kullanıldığı bilimsel yöntemlerle açıklanır. Sonuçların güvenilirliği için olay yerinin güvenliği önemlidir. Her hangi bir olayla karşılaşan kolluk kuvvetleri branşı ne olursa olsun olaya müdahale eder ve olay yerini kontrol altına alır. Olay yerinde yaralı var ise kişinin hastaneye sevkı sağlanır. Olay yerindeki delillere zarar vermeyecek ve kişisel güvenlik açısından tehlike oluşturmayacak şekilde, zorunlu giriş ve çıkışlar için güvenlik koridoru oluşturulur. İlk ekip, aldığı tedbirleri ve olay yerini, olayın niteliğine göre ilgili soruşturma birimine devreder. Sonraki aşama delil toplama olsa da, delil toplama aşamasından önce kamera ve fotoğraf ile olay yeri sabitlenir. Olay anını ve olay yerini tekrar tekrar canlandırmak gerekebilir. Olay yerinden toplanan her delil, delil teslim zinciri bozulmadan ulaştırılması gereken laboratuvara iletilmelidir. Bu aşamada deliller özelliğine göre ayrı ayrı toplanmalı, paketler arası etkileşimi engelleyecek şekilde doğru paketlenmeli, olay yeri ortam koşulları, hava durumu belirtilerek etiketlenmelidir. Delil paketlerinin üzerine; tarih ve saat, delil numarası, delilin ne olduğu, nereden, kimden alındığı ve delil toplayanın bilgileri mutlaka

belirtilmelidir. Ulaştırma aşamasında delil teslim zinciri bozulmadan, teslim raporlarıyla ulaştırılmalıdır (12, 21). O.J. Simpson davasında pozitif DNA idantifikasyonu bulunduğu halde, delillerin toplanmasında delil teslim zinciri kırılması ve hukuka uygunluğunun kesi olmamasından dolayı jüri sanığı suçsuz bulmuştur (22, 23).

2.2. Delillerin Sınıflandırılması

Deliller temelde, beyan delil ve maddi delil olarak iki alt başlık olarak tanımlanabilir.

2.2.1. Beyan Delil

Olayla ilişkisi bulunan tanık, mağdur ve şüphelilerin vermiş olduğu ifadeler olarak tanımlanır. Kişilerin bir konu hakkındaki açıklamaları, sözlü izahları, bilgi aktarımları birer beyan delil olarak nitelendirilir.

2.2.2. Maddi (Fiziksel) Delil

Tanık, mağdur ve şüphelilerin olayla ilişkisinin ispatını sağlamak için bilimsel yöntemlerin uygulanabileceği özellikte materyal, bulgu olarak tanımlanır (24,25). Bu türdeki deliller şüphelinin aleyhine olurken suçsuzun lehine olan birer gizli tanıktır. Olay yerinde bulunabilen başlıca maddi deliller; biyolojik deliller, kimyasal deliller, fiziksel deliller ve iz deliller olarak gruplandırılabilir.

2.2.2.1. Biyolojik deliller

Suçun işlendiği yerlerde kişilerin vücudundan akan, düşen ya da bırakılan her türlü materyale biyolojik delil denir. Suçu belirlemeye yönelik incelenen başlıca biyolojik deliler; kan, kıl, saç, sperm, idrar, gaita, tükürük, doku ve hücreler, diş ve organ parçaları, kemik, kepek ve deri döküntüleri olarak sıralanabilir (26). Biyolojik deliller, kuvvetli ve güvenilir olmalarının yanında her an bozulmaya veya kontaminasyona maruz kalma riski nedeni ile doğru tekniklerle ve özenle çalışılması gerekir (14,21).

2.2.2.2. Kimyasal Deliller

Yasal veya yasa dışı yanıcı patlayıcı maddeler, ilaç gıda ve katkı maddeleri, boya, toprak, cam, metal örnekleri, yangın atıkları, toksik maddeler, uyuşturucu ve uyarıcı maddeler en başta sayılabilecek kimyasal deliller arasındadır.

2.2.2.3. Fiziksel deliller

Her türlü fiziki yapıya sahip yapılar bulgular, ateşli silahlar, mermi çekirdeği, kovan, bıçak veya bunun gibi suç aletleri sıralanabilir.

2.2.2.4. İz deliller

Suçun işlenmesi sırasında kullanılmış veya kullanıldığından şüphelenilen bıçak, tornavida, makas gibi aletlerin izi, parmak izi, ayakkabı izi, tekerlek izi, diş veya bunu gibi izleri kapsayan delilleri iz deliller altında toplayabiliriz (24).

2.3. Adli Bilimlerde Kimliklendirme ve Önemi

Bir kişinin kimlik tespiti ve kimlik tayini adli tıbbın temel konularından biridir. Bireyin tanınması ve diğer kişilerden ayrılmasında faydalanan tüm özellikler kimlikte belirtilir. Kimlik tespiti ve kimlik teşhisi ise farklı kavramlardır. Kimlik tespiti mahkemelerde ve adli muayenelerde veya diğer olaylarda bir kimsenin diğerlerinden ayrılmasında kullanılan bilgilerdir. Kişinin nüfus kayıtlarındaki yaşı, cinsiyeti, anne ve baba adı, doğum yeri ve doğum tarihi gibi bilgiler kimlik bilgileridir. Kimlik teşhisi ise bilinmeyen bir kimsenin veya cesedin kim olduğunun belirlenmesidir. Kişinin vücut özelliklerinin, yaş, fiziksel özellikleri, parmak izi, diş yapısı, kemik özellikleri gibi özelliklerle tanımlanır. Adli bilimlerde, eğer kişinin kimlik tespiti yapılamadıysa olay yerinden toplanan delillerden ilk olarak kimlik tespiti için analizi yapılır (27,28). Bir cesedin özellikle ceset bütünlüğü bozulmadığı durumlarda cesedin vücut üzerindeki yara izi, dövme gibi kişiye özgü olan işaretler kimlik teşhisine yön verse de, parmak izi ve DNA analizi kesinlik kazandırmaktadır.

Zamana bağlı olarak ileri derecede çürümüş ya da yüksek ısıyla yapısal bütünlüğü son derece bozulmuş ceset kalıntılarında kimliklendirme büyük ölçüde kemik ve dişten alınan örnekler ile yapılır. Ceset bütünlüğünün bozulduğu cinayet, yangın, uçak ve motorlu taşıt kazalarında görsel kimliklendirme genellikle mümkün olmamaktadır. Yangın, uçak ve motorlu taşıt kazaları, vahşi cinayetler gibi cesedin çürüdüğü ya da vücut bütünlüğünün ileri derecede bozulduğu vakalarda tanık veya tanıdık ifadelerini temel alan görsel kimliklendirme her zaman mümkün olmamaktadır (29). Bu durumda kemik ve diş dahil tüm kalıntılardan elde edilen bütün veriler kullanılarak kimliklendirme gerçekleştirilir.

Veriler kaydedilebilir ve analiz tekrarlanabilir olmalıdır. Ayrıca, uygulanan test çeşidi ve sayısının son durumda tüm olasılıkları kapsama veya dışlayabilir nitelikte

olmalıdır. Bununla birlikte değerlendirmeler sonucu dışlanan kişi şüpheden uzaklaşsa da, şüpheli olarak dışlanamayan kişinin masumiyeti hiçbir zaman kesinlik sağlamamaktadır (21, 30).

Olay yerinden alınan parmak izleri tam olduğu halde, latent parmak izinin geliştirilmesi sırasında yanlış dışlama veya identifikasyonla sonuçlanabilir. Bununla birlikte tam parmak izinin alınamadığı durumlarda hata riskinin daha fazla olacağı kesindir (31).

Fiziksel ve kimyasal özellikleri bilinen delillerin farklı bir amacı karşılaştırmadır. Karşılaştırma analizi, referans örnek ile şüpheli örneklerinin aynı analizler sonucu gözlem yapılması ile sağlanır. Tamamlanan inceleme sonrasında adli bilimler uzmanı karşılaştırma yapılan materyaller arası bir sonuç çıkarır. Karşılaştırma sonucu örnekler biri biri ile uyum sağlamıyor ise aynı kaynaktan olmadığı, örneklerin aynı olmadığını belirterek dışlama sağlanabilir. Buna karşı, karşılaştırması yapılan materyaller arasında ayırım sağlanamıyor ise örneklerin aynı kaynaktan geldiğini gösterebileceği gibi bu durum karşılaştırılan örneklerin her zaman aynı kaynaktan geldiğini de ifade etmemektedir (21). Adli Bilimlerde bunun gibi olasılıkların hesaplanmasında da istatistiksel veriler kullanılarak matematiksel bağlantılardan yararlanılmaktadır (32).

2.4. Parmak İzi İncelemeleri

Kriminal incelemelerin başlangıcından itibaren, araştırmacılar kişi tanımlamaya yönelik; güvenilir, bire bir yöntemler bulmak için çaba göstermişlerdir. Parmak izi sisteminin geçmişine dair bulgular tarihi yapı ve eserlerde rastlansa da kullanılmaya başlanması çok daha yenidir. Kişi tanımlamada 1883 yılından itibaren ilk uygulanan yöntemler arasında Bertillon yöntemi kabul edilmiş ve uygulanmıştır. Bertillon yönteminde insan vücudundaki yapıların bire bir ölçümleri alınarak doğru kişi tanımlama amacıyla çalışılmıştır. Kişi tanımlamada parmak izi sistemi ise 1900'lü yılların başından itibaren kullanılmaya başlanmıştır. Parmak izi halen günümüzde modern kriminal tanımlamanın en önemli yöntemlerinden biri olarak uygulanmaktadır.

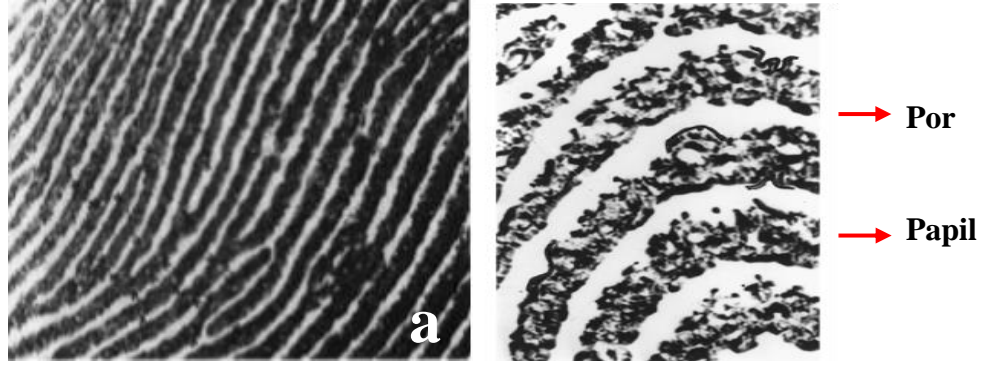
M.Ö. yıllarda Türklerin yaşadıkları mağaralardan elde edilen toprak eşyaların yanı sıra parmak izi resimleri de elde edilmiştir. Günümüzden 3000 yıl öncesine ait bulunan kalıntılarda Çinlilerin yasal belgeleri onaylamak için parmak izlerini kullandıkları tespit edilmiştir. Ancak bulunan parmak izinin, resim gibi amaçlar için mi yoksa kişi tanımlama amaçlı mı kullanıldığı hala kesin olarak bilinemeyerek tarihin derinliklerinde kalmıştır.

Asurlar öncesi devirlerden kalma tabletlerde parmak izi resimlerine rastlanmış, Babillerde ise maktubuz veya bunun gibi önemli belgelerde parmak izi kullandıkları görülmüştür.

Her ne kadar tarihi nesnelere parmak izleri tespit edilmiş olsa da Adli Bilimlerde delil olarak sistematik kullanımı yakın tarihte başlamıştır. Hindistan'da memur olarak görevli olan İngiliz kökenli William Herschel resmi bir belgeden aldığı parmak izleri ile önemli kimliklendirme aracı olan parmak izi yönteminin temellerini oluşturmuştur. Herschel ile günümüze ulaşan yaklaşık 150 yıllık sürede parmak izi alanı gelişmiş ve farklı yönleri ile kullanımı sağlanmıştır.

Adli olaylarda kimliklendirme aslında tüm adli işlemlerde ilk aşamadır. Kimliklendirme ile kişinin belirlenmesi, hukuki süreç için önemlidir. Dolayısıyla kişilerin kimliklerinin doğru olarak tespit edilmesi en önemli aşamalardan biridir. Parmak izinin kimlik tespitinde kullanımında şahıs kimliklendirme yapılmaktadır. Bunun gibi birçok amaçla kimlik tespit yöntemleri hukukta kullanılmaktadır. Adli olaylarda, özellikle kesinliği kabul gören tekniklerle kimliğin belirlenmesi çok önemlidir. Parmak izi kullanımını da kesin kimliklendirme yöntemlerinden biri olarak kullanılmaktadır. Kolluk kuvvetleri tarafından rutin kullanımı, mahkemelerce kabul edilen önemli delil olarak kabul edilmesi, bu alandaki araştırmaların sonuçlanıp bittiği anlamına gelmez. Parmak izleri hala araştırılmaya ve geliştirilmeye açık bilimsel bir alan olarak güçlü ve zayıf yönleri ile güncelliğini korumaktadır (31,33).

Parmak iç yüzeyinin, birinci boğum ve parmak ucu arasında kalan bölgenin yüzeyler üzerinde bıraktığı izlere '**parmak izi**' denir. Parmak izinde üzerinde bulunan ince hatlara ise '**papil**' denir. Papil hatları arasında '**por**' adı verilen küçük gözenekler ile zincir şeklinde dizilir (Şekil: 1)(34). Papil hatları üzerinde açılan ter bezlerinin nemli tabaka oluşturmasıyla, parmak ucunun yüzeye teması sonucu parmak izi gerçekleşmektedir. Parmak izleri; kemer, kement ve düğüm, tak ve helezon gibi şekillerine göre farklı isimlendirilir.



Şekil 1: Parmak izinde papil ve por bölgelerinin gösterimi

(a: 'Edgescopy'de parmak izi görüntüsü, b: 'Edgescopy'de yakınlaştırılmış parmak izi görüntüsü)

Görünür parmak izleri, çıplak gözle ve ışık kaynakları kullanıldığında tespit edilebilen parmak izleridir. Latent (görünmez) parmak izleri, farklı fiziksel ve kimyasal işlemler ile tespit edilmeye çalışılan parmak izleridir.

Suçun faili olan kişiler çoğu zaman zımpara, sürtme, yakma veya kimyasal tahribatla parmak izlerini yok etmek için uğraşırlar.

Şüpheli bir kişiye ait parmak izinin incelemesinde, kişiye ait olup olmadığının tespitinde papil hatlarına ait özelliklerin 12-16 noktada benzerliği aranmaktadır. Aynı olan karakteristik çizgiler 8-12 nokta arasında karşılaştırıldığında, güvenilirliği sınırlı kabul edilmektedir. Bu durum 8'den az olduğu durumlarda ise identifikasyon için uygunluğu kabul edilemez.

Parmak izleri her ne kadar önemli bir delil özelliği taşısa da yetersiz kaldığı durumlar vardır. Parmak izi parsiyel nitelik özelliği taşıdığında, iz yeterli sayıda karşılaştırma noktası içermeyebilir. Bu durumda identifikasyon yapılamamaktadır. Aynı durum sürüntü parmak izlerinde de görülmekle birlikte karşılaştırmaya yönelik inceleme için kesinlikle uygun değildirler ve yeterli sayıda nokta içermediğinden delil olarak kabul edilmez (35,36).

Bir olay yerinde bulunan parmak izlerinin genellikle yarısı tasnif ve mukayese edilebilir nitelikte değildir. Söz konusu izlerin hiçbiri toplanmamaktadır.

2.4.1. Parmak İzini Etkileyen Faktörler

Kontaminasyon: Parmak izi bırakılan bölgenin çeşitli maddeler ile kirlenmesi ile parmak izinin kısmen veya tamamının bozulmasına sebep olmaktadır. Ayrıca olay yerinde delil toplama kriterlerindeki dikkatsizlik, delillerin paketlenmesindeki yanlışlar, fotoğraflama yapılmaması geri dönüştürülemeyen kayıplara sebep olabilmektedir.

Meslek: Bulunduğu mesleğe bağlı olarak kişinin papil hatlarının her geçen gün deforme olmasına sebep olmaktadır. İnşaat işçilerindeki deformasyon ya da temizlik personellerindeki kimyasala maruziyet gibi etkenler neticesinde, karakteristik özellik taşıyan parmak izinin tespiti zorlaşmaktadır.

Cinsiyet: Genellikle bayanların parmak ucunun birim zamanda salgıladığı sıvı miktarı erkeklere nazaran daha az olmaktadır. Bununla birlikte bayanların papil hatlarının daha zayıf olması da, temas yüzeylerine bıraktıkları parmak izinin daha zayıf olmasına sebep olmaktadır.

Ortam koşulları: Soğuk yerde bulunan kişinin ter bezleri sıcak ortama göre daha az ter salgılanmaktadır. Sürekli sıcak koşullarda bulunan kişi de aynı şekilde soğuk ortamda bulunduğu daha az ter salgılamaktadır. Nem, aşırı sıcak ve soğuk, açık veya kapalı ortam parmak izi kalitesini etkilediği gibi, temas yüzeyindeki kalma süresini de etkilemektedir.

Yaş: Genç kişilerin, daha yaşlı kişilere göre parmak izi sıvısının içeriğinin farklı ve miktarının daha fazla olması parmak izi kalitesinde farklılık yaratmaktadır. Ayrıca yaşlıların parmak epidermis tabakasının daha düzleşmiş ve elastikiyetinin azaldığı bilinmektedir.

Psikolojik Durum - Hastalık: Kişinin günlük yaşantı anındaki parmak izi salgısı ile olay anında içinde bulunduğu heyecan, korku gibi farklı duygu durumu değişikliği parmak izi gelişimini etkilemektedir. Bazı hastalıkların, hatta kullanılan ilaçların parmak izini oluşturan sıvı içeriğini değiştirebildiği gösterilmiştir.

Temas yüzeyi: Parmak izinin bırakıldığı yüzeyin özelliği, cam veya metal yüzeylerde parmak izinin tespitini kolaylaştırdığı gibi pürüzlü yüzeylerde parmak izinin oluşumunu fazlasıyla etkileyebilmektedir. Bununla birlikte parmak izinin bırakıldığı

zamandan parmak izi incelemesi için örneğin alındığı süreye kadar yüzey ve ortam özelliği de parmak izinin tespitinde oldukça büyük öneme sahiptir.

Yüzeyde bulunma şekli: Parmak izinin yüzeyde bulunma şekli, kısmi parmak izi, parmak izinin kaydırılması ve aynı noktada birden fazla sayıda parmak izinin bulunması parmak izi tespitini etkileyen önemli kriterler arasındadır (31,32,37,38).

Adli bilimlerde parmak izi değerli deliller arasında olsa da parmak izini etkileyen faktörlerin olumsuz etkisi ile her zaman değerlendirilememektedir. Parmak izi por ve papil yapısının yeterli olmadığı durumda temas yüzeyine aktarılan izler mikrobiyoloji alanında konuşuturularak delil niteliği taşıyabilmektedir.

2.5. Adli Bilimler ve Mikrobiyoloji

Adli bilimler genel olarak, yasal sorunların araştırılması ve olayların çözülmesinde bilimin uygulanmasıdır. Adli olayların aydınlatılması çoğu zaman multidisipliner bir çalışma gerektirir. Olay yerinden toplanan delil niteliği taşıyan materyaller, çoğu zaman tek bir analiz ile olayı aydınlatmak için yetersiz kalabilir. Bu durumda toplanan materyaller birden fazla alanda incelenir. Adli mikrobiyoloji de adli bilimler içindeki en önemli alanlardan biridir.

Adli Mikrobiyoloji biliminin teorik ve pratik uygulamalarından başlıca, biyolojik savaş, biyolojik suç, besin zehirlenmeleri ve post mortem incelemelerde ölüm nedeninin tespiti için yararlanılmaktadır. Adli mikrobiyoloji araştırmalarında klasik delil çalışmalarına ek olarak, post mortem dönemde çürümeye elde edilen vücut sıvısında normal flora dışında tespit edilen mikroorganizma ya da enfeksiyondan ölüme sebep olan mikroorganizmanın tespit edildiği durumlarda açıklayıcı olmaktadır. Birden fazla vakada, bakteriel menenjit etkeni olan oral bakteri *Streptococcus salivarius*'un spinal injeksiyon sırasında anesteziistin maske kullanmamasından kaynaklandığı bildirilmiştir (39,40). Çocuk istismarları da dahil olmak üzere, *N. gonorrhoeae* ve *Chlamydia trachomatis* gibi cinsel yolla bulaşan bakterial enfeksiyonlar ya da İmmun Yetmezlik virusu (HIV), Hepatitis B virus (HBV), İnsan Papilloma virusu (HPV) ve genital herpes (herpes virus) gibi virüslerin sebep olduğu enfeksiyonlarda, epidemiyolojisinin belirlenmesi gerektiği vakalar bildirilmiştir (41). Bu tip

enfeksiyonlara sebep olan bakteri veya virüs en çok olaydan sonra belirti vermemesi ve tespit edilmesinin zorluğunun yanında olayın çözümünde önemli olduğu için kıymetli delil niteliğindedir (42). Bireysel veya toplu tüketilen besinlerde en sık rastlanılan etkenlerden olan *Shigella* veya *Salmonella* kaynaklı zehirlenme sebebinin belirlenebilmesini sağlamaktadır (43,44). Üretilebilirliği ve uygulanabilirliği kolay olan, farklı amaçlarla kullanılan ve ciddi sonuçlara sebebiyet verebilen biyoterörizmin yaşandığı durumlarda da adli mikrobiyolojinin rolü oldukça önemlidir (45,46).

Mikroorganizmaların türleri ve özellikleri hakkında bilgimiz arttıkça, zararlı etkilerinin de bilinmesi artmıştır. İnsanların zararına kullanılmasının yanında, çevreye yönelik suç olaylarının da artmasını sağlamıştır. Bu tür olaylarda kullanılan suç aleti ve suçun işleniş şekliyle diğer suçlarla olan farklılıkları önümüze çıkarmaktadır (47,48).

2.5.1. Biyolojik Savaş

Mikroorganizmaların veya toksik maddelerinin politik, dini, ekolojik veya ideolojik sebeplerle, kişiler veya gruplar tarafından, bir ülkenin askeri kuvvetlerine, halkına, hayvanlarına ve bitkilerine karşı hastalık oluşturmak veya onların ölümüne sebep olmak amacıyla kullanılmasıdır. Kullanılan biyolojik etken olarak, bakteri, virüs gibi mikroorganizmalar daha çok kullanılsa da, toksin, proteinler, bazı ökaryotlar ve bitkiler de kullanılmaktadır (49).

Biyolojik silah üretiminin kolay ve ucuz olması, küçük miktarda dahi etkili olması terör örgütleri tarafından en çok tercih edilme sebepleri arasındadır. Biyolojik ajan olarak kullanılan materyalin, çevresel koşullara karşı güçlü adaptasyonu, üretimleri için özel alt yapı ve maliyet gerekmemesi ve kolay çoğalabilmeleri terör eylemlerinde tercih edilme nedenlerinden yalnızca birkaçı olarak sıralanabilir.

Bununla birlikte, biyolojik etkenlerin kullanımını kısıtlayan, hava şartları ve topografik özellikler gibi etki derecesini etkileyen faktörler, önceden tahmin edilmesini ve kontrolünü zorlaştıran koşullardır. Tüm bunlara rağmen biyolojik ajanlara karşı yapılacak olan savunma, doğru bir şekilde tespit edildiklerinde, kimyasal ajanlara karşı olan savunmadan daha kolaydır. Bazı durumlarda ise patojen sporlarının toprakta onlarca yıl kalabilmesi, uzun vadede tehlikenin devam ettiğini göstermektedir (50,51).

2.5.2. Biyolojik Suç

Biyolojik etkenlerin bazen bir kişi veya grup tarafından, bazen devlet tarafından topluma saldırı amacıyla kullanılması biyolojik savaş olarak tanımlanmaktadır. Biyolojik suçun, belirli kişi veya kişilere yönelik olması diğer suç türleri ile benzerlik gösterse de kullanılan silah tamamen farklıdır (52).

Biyolojik silahın, bireye yönelik uygulanması ile eylemin biyolojik suç olarak tanımlanması kabul edilmiştir. Diğer suçlarla karşılaştırıldığında daha az görülsede, kullanılan organizmanın ve suçlunun tespiti açısından önemle inceleme gerektirir. Biyolojik suçlar arasında HIV en çok kullanılan virüs örneğidir. Kişi taşıyıcı olduğu virüsü bilinçli veya tamamen farkında olmadan çevredekilere bulaştırılmasına sebep olabilmektedir. Şüphelinin HIV bulaştırması gibi suçların araştırılmasında moleküler tiplendirme ile bilgi edinildiği gibi, moleküler incelemelere ek olarak biyolojik silah hazırlama, saklanma veya yayılmasıyla ilgili bilgilerde tespit edilebilmektedir (53).

2.5.3. Besin Zehirlenmeleri

Hayvansal ve bitkisel besinlerin uygun olmayan koşullarda üretilmesi veya saklanması sonucu üreyen mikroorganizmaların veya onların toksinlerinin tüketilmesiyle oluşan zehirlenmelere besin zehirlenmesi denir. Gıdalara bilinçli/bilinçsiz mikrop bulaştırarak insanların hastalanmasına veya ölümlerine sebep olunmaktadır. Kişilerin, herhangi bir sebeple gıdalara toksik madde bulaştırdığı eylemler suç olarak tanımlanarak, ülkelere göre değişen sürelerde ve şekillerde ceza almaktadırlar. Salgının türüne göre Türk Ceza Kanunu ve Umumi Hıfzısıhha Kanunu ile bu tür durumların sebepleri tespit edilerek, verilecek cezalar belirlenir (8,54).

2.5.4. Postmortem İncelemelerde Mikrobiyoloji

Mikrobiyolojik incelemeler, ölüm sebebinin patojen bir mikroorganizmaya bağlı olup olmadığının tespitinde çözüm sağlayan tekniklerdir. Otopside alınan biyolojik materyallerde bakteri, virüs, mantar, parazit varlığının tespiti, varsa tanımı yapılır. Bir hastalık şüphesinin olduğu vakalarda ölümü açıklayacak mikroorganizmanın belirlenmesi için kan, BOS, idrar, gaita, doku, organ, kemik veya sürüntü örnekleri alınarak inceleme sağlanır. Postmortem mikrobiyolojik inceleme, özellikle ani ölümlerde ve diğer otopsi

bulgularının tek başına açıklayıcı olmadığı durumlarda diğer bulgularla birlikte değerlendirildiğinde belirleyici olabilir. Bebeklik, çocukluk veya herhangi yaş aralığında gerçekleşen ani ölümlerde, klinik beklentisi olsa da olmasa da, şüphelenilen ölüm sebebine göre mikrobiyolojik incelemeler yapılır. Yaşanan bir düşük olgusunda ölüme sebep olan organizmanın türünün belirlenmesi veya steril olmayan alet ve ortamda uterus kaynaklı bir enfeksiyon odağına, periton delinmesine bağlı sepsis veya septisemiye bağlı olduğunun belirlenmesi mümkündür. Kullanılan aletlerle karşılaştırma sağlandığında olayın oluş şekli de netlik kazanacaktır (55).

2.5.5. Güncel Gelişmeler

Bazı vakalarda bakteriyal veya viral etkenin tanımlanması klasik mikrobiyoloji teknikleriyle mümkün olmayabilir. Yapılan bir biyolojik saldırının belirtileri hemen ortaya çıkmayabileceğinden, suç araştırması, rutin tanı yöntemleri ve epidemiyolojik araştırmalar birbirine bağlı yürütülmelidir (56).

Olay yerinden elde edilen delillerdeki mikrobiyolojik ajanın genetik yapısının belirlenmesi, mikroorganizmaların genomik yapısı, popülasyon özelliği ve filogenetik analizi kalitatif ve kantitatif çalışmalarla önem kazanmaktadır. Mikroorganizmaya ait genomik materyal ekstraksiyonundan sonra hedef bölgeyi çoğaltma işlemi olan PCR tekniği ile protein sentezinden sorumlu olan 16S ve 23S ribozomal RNA kodlayan DNA bölgeleri öne çıkmaktadır. Bu bölgeler tüm canlılarda benzer özellikler taşısa da, bazı bölümleri mikroorganizmaların türleri arasında ve bir türün içinde önemli farklılıklar göstermektedir. Mikrobiyal delillerin ve referans örneklere ait genetik profillerin karşılaştırılarak aynı kaynaktan gelip gelmediğinin ayrımı yapılarak, şüpheli ve deliller arası ilişki belirlenebilmektedir (57). PCR/RT-PCR, dizileme, proteomik ve genomik yöntemler, microarray, dendogram ve filogenetik ağaçlar ile analiz yöntemleri tanıda kullanılan bazı teknik aşamalarıdır (58). Adli mikrobiyolojik incelemelerde suçların tiplendirilmesinde MLST (Multiple Locus Sequence Typing), SNP (Single Nucleotide Polymorphism), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) gibi teknikler en sık kullanılanlar arasındadır (8,49,59).

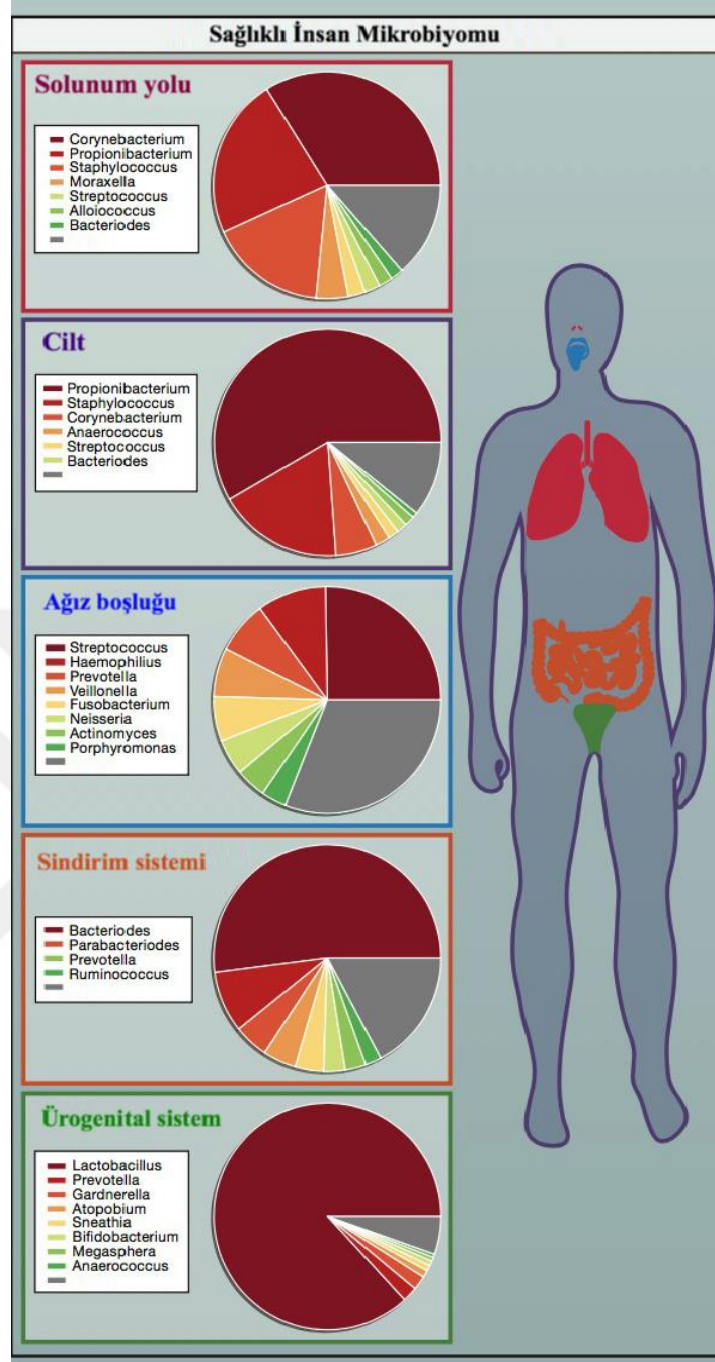
Adli mikrobiyoloji de adli bilimlerin diğer alanlarında olduğu gibi olay yeri incelemesi, delil toplama ve taşıma, delil teslim zinciri, delilin incelenmesi ve elde edilen sonuçların yorumlanarak değerlendirilmesi sağlanmaktadır. Ancak biyolojik delilin

toplanması, laboratuvar incelemeleri ve değerlendirme için yeterli miktarda ve kriterlerde olması her zaman mümkün olmamaktadır. Delil incelemede başlıca DNA analizi, iz incelemeleri, kimyasal analizler, parmak izi araştırmaları olsa da deliller bilinen analiz yöntemi ile değerlendirilemeyecek durumda olabilir. Şüpheliye ait kişiye özgü parmak izi analizini sağlayacak kriterler bulunmadığında, kişiye özgü olan mikrobiyota kavramıyla ve farklı bir bakış açısıyla deliller konuşurulamaktadır. Bu nedenle adli çalışmalarda yeni tekniklerin geliştirilmesi ve geliştirilen tekniklerin uygulanması gün geçtikçe daha fazla önem taşımaktadır.

2.6. Mikrobiyota

Mikrobiyom terimi, ilk defa 2001 yılında Nobel ödüllü genetikçi Joshua Lederberg tarafından tanımlanmıştır. Mikrobiyom; tüm mikroorganizmaların genomu olarak ifade edilir (60). Mikrobiyota ise, bir topluluk içerisinde bulunan tüm mikroorganizmalar olarak tanımlanır. Bazen normal flora olarak da ifade edilir. İnsan vücudu 10^{30} hücreden oluşurken, hücre sayısının 10 katı mikroorganizma taşımaktadır. İnsan mikrobiyomunda 3.3 milyon gen bulunurken, bunların % 99'unu bakteriyel mikroorganizmalar oluşturur (61).

'İnsan Mikrobiyom Projesi' (İMP), 2007 yılında başlamış ve ön sonuçları vücutta tüm bölgelerin kendine ait bir mikrobiyotaya sahip olduğunu göstermiştir. İnsan mikrobiyomu belirlenirken etik ve sosyal değerlere özen göstererek; insan vücudundaki tüm mikro organizmaların belirlenmesi, insanlar arası farklılıkların tespit edilmesi, belirlenen farklılıklarla hastalıkların ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Değişik zamanlarda, 300 gönüllünün, 5 farklı vücut bölgesinden toplam 11.700 örnek toplanmıştır. İnsan Mikrobiyom Projesi ile insan vücudunda 10 bini aşkın bakteri ve 3000'i aşkın virüs tespit edilmiştir. Mikrobiyota bölgeleri içerisinde bağırsak, ağız boşluğu, solunum yolu, cilt ve ürogenital bölgeleri önemli yer tutmaktadır (62,63). Vücuttaki farklı bölgelerin özelliklerine göre bakteri kolonizasyon özelliği ve yoğunluğu da değişiklik göstermektedir (Şekil 2)(64). Vücut bölgelerindeki bakteri türleri çok değişkenlik gösterse de metabolik yollar genelde korunmuştur (65).



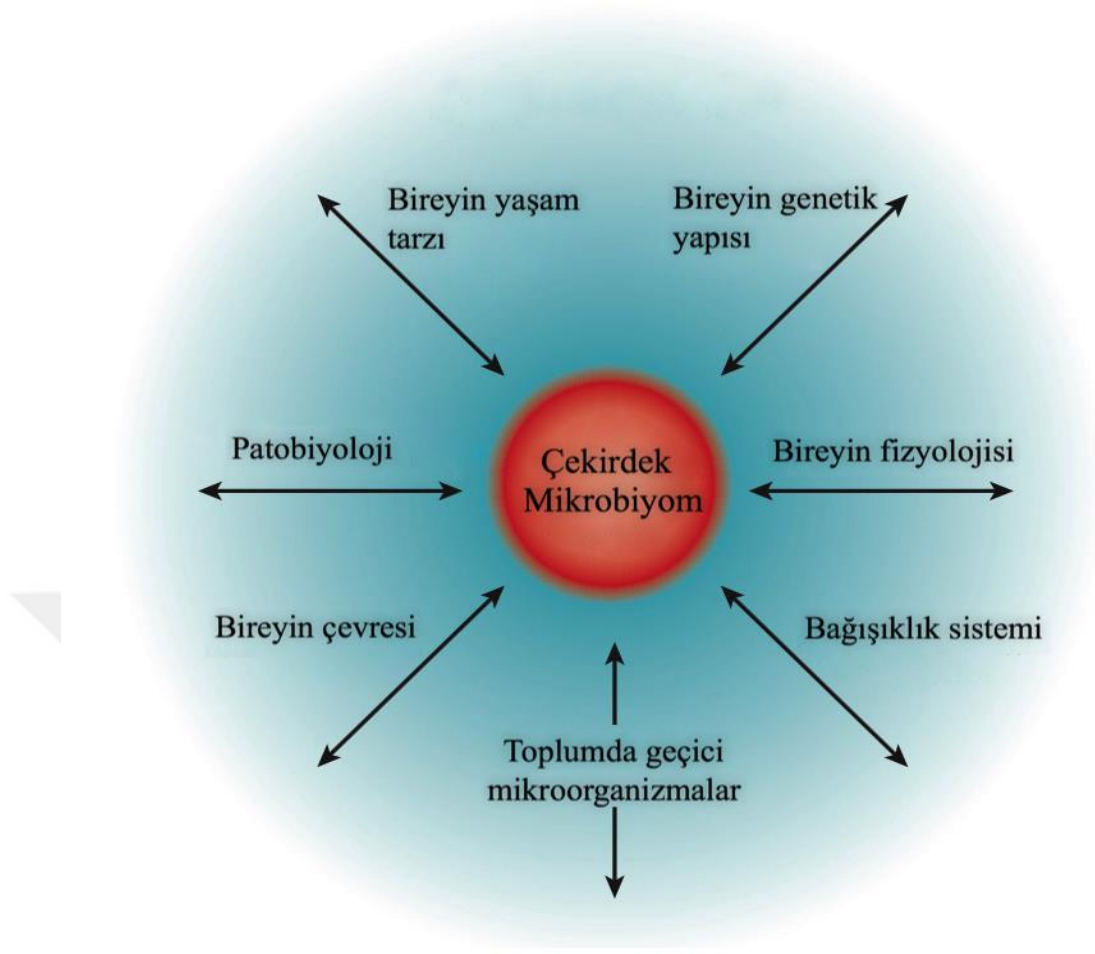
Şekil 2: Sağlıklı insana ait mikrobiyom haritası

Cilt, ağız boşluğu, bağırsaklar, akciğer, vagina, rahim, plasenta, yumurtalıklar, süt bezleri, sperm ve tükürük gibi vücudun farklı doku ve sıvılarında yoğunlaşmış, kommensel yaşayan mikroorganizmalar topluluğuna normal mikrobiyota denir (66,67). Normal mikrobiyota topluluğundaki mikroorganizmalar, besinlerin metabolize edilmesi, yüksek virülan özellikteki mikroorganizmaların enfeksiyonlarına karşı koruma ve immun yanıtı

stimüle etme aşamaları temel görevleri arasındadır. Normal mikrobiyota; vücudun çeşitli bölgelerinde yoğunlaşmış ve organizmaya zararı olmaksızın yaşamlarını sürdüren mikroorganizma topluluğu olarak da tanımlanır. Normal mikrobiyota, patojen organizmalara karşı rekabeti sürdürebildiği taktirde enfeksiyona karşı koruyucudur. Yaş, beslenme, hormonal durum, kişinin sağlık ve kişisel hijyen durumu normal mikrobiyota yı etkileyen başlıca faktörler arasındadır. Geçici mikrobiyota; saat, gün veya hafta gibi ölçülebilecek süreler içinde vücudun farklı bölgelerine yerleşen mikroorganizmaların oluşturduğu mikrobiyotadır. Vücudun belirli bölgelerinde, belirli bir süre kalan, sonrasında kaybolan veya yerini başka mikroorganizmalara bırakan mikrobiyota olarak tanımlanır. Konakçı ile yaşam düzeni kuran, belirli bölgelerde, belirli şartlar altında düzenli olarak bulunan, yaşayabilen, çeşitli koşullar, kaldırılrsa bile yeniden kendiliğinden oluşan mikrobiyota, kalıcı mikrobiyotadır. Kalıcı mikrobiyotada, organizmalar savunma gücü var olduğu sürece enfeksiyon oluşturmazlar. Bazı mikroorganizmalar çevreden kaynaklanan, insanda enfeksiyon yapan, geçici mikrobiyotayı oluşturan patojen mikroorganizmalardır (60,68,69).

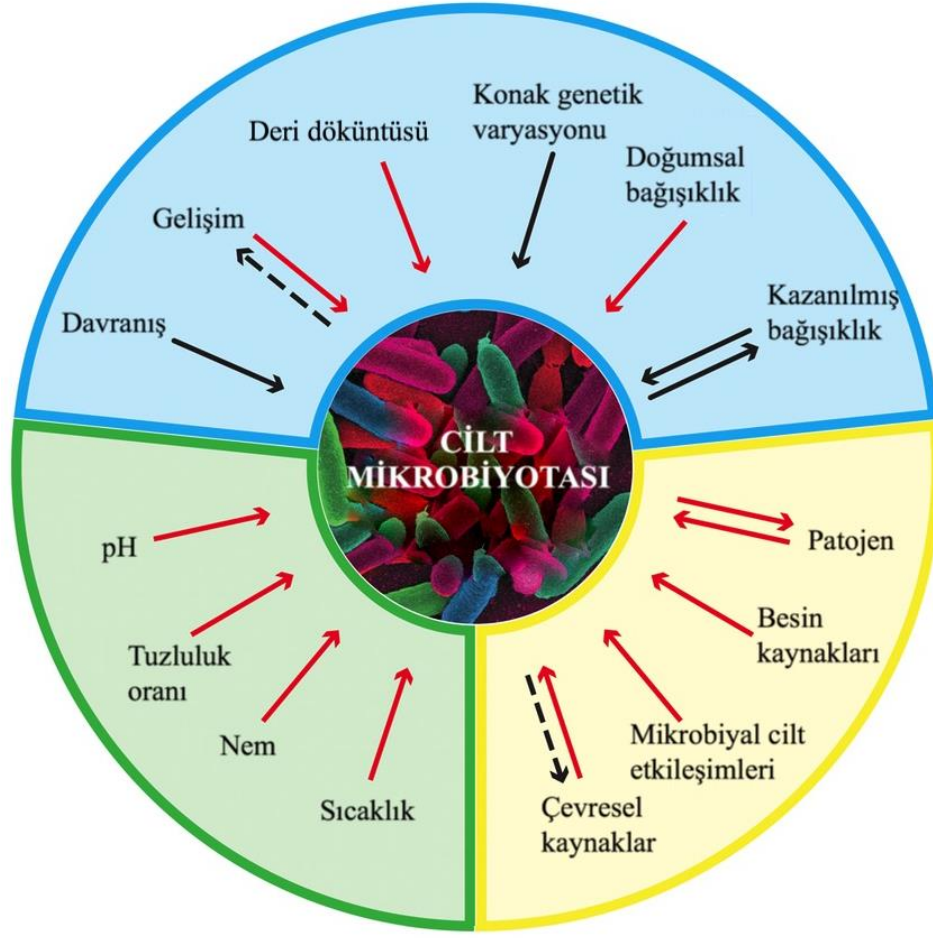
İnsan vücudu üzerinde, mikrobiyota nüfusunda değişmeyen veya zamanla değişebilen, bulunduğu bölgeye göre mikroorganizma popülasyonları bulunur. Her kişinin taşıdığı bağırsak, nefes, cilt mikrobiyotası bireye özgünlüğünü taşımaktadır. Bireyler arası mikrobiyota özellikleri farklı olsa da, aslında benzer işlev gösterir. Örneğin, iki kişinin ağız içi mikrobiyotası birbirinden tamamen farklı olmasına rağmen, ağız içi sindirimi aynı mekanizmayla gerçekleşir. İntestinal mikrobiyota popülasyonundaki değişmelerin; diyabet, allerji, otizm, obezite, gastrik kanser, hipertansiyon, otoimmün hastalıklar gibi birçok hastalıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, biri şişman diğeri zayıf olan ikiz deneklerin mikrobiyotalarının birbirinden farklı olduğu gösterilmiştir. Şişman farelerin bağırsaklarında, zayıf farelere göre %50 daha az *Bacteroidetes* bulunurken, zayıf farelerde de %50 daha fazla *Firmicutes* türlerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Ayrıca şişman farelere uygulanan diyet kısıtlamasına rağmen kilo kaybı görülmemiştir (70,71).

İnsan mikrobiyotasının büyük bölümünü, başta sindirim sistemi oluştururken deri, genitoüriner sistem ve solunum sistemi yoğun kolonizasyon gösteren bölgeler arasındadır. Sindirim sistemi, oldukça geniş yüzey alanına sahip ve mikroorganizmalar için zengin besin öğeleri içerirken, tek başına vücudumuzdaki mikroorganizmaların %70'inden fazlasını oluşturmaktadır. İnsanlarda sindirim sistemi mikrobiyotası, özellikle doğumdan sonra şekillenmeye başlarken, doğum şekli, beslenme ve çevresel faktörler gibi birçok faktör şekillenmesine etki etmektedir (Şekil 3)(72).



Şekil 3: İnsan mikrobiyomunu etkileyen faktörler

İnsan cildi pek çok farklı mikroorganizmaya ev sahipliği yaparken, deri yüzeyinde, por ve glandlarda kolonize olmuş mikroorganizmaların pek çoğu konakla birlikte, kommensal durumda ciltte bulunmaktadır. Vücudumuzdaki total mikroorganizma sayısı insan hücre sayısından 10 kat daha fazla sayıdadır. Ciltte her cm^2 'de yaklaşık 10^6 bakteri bulunmaktadır. İnsan cildindeki farklı bölgeler farklı pH, sıcaklık, nem, yağ gibi özelliklere sahip olup, bu durum da kolonize olan mikroorganizmaların bölgelere göre farklılık göstermesine, her bölgenin kendine özgü bir mikrobiyotaya ve kişiye özgü farklılık göstermesine neden olmaktadır (73-75).



Şekil 4: Cilt mikrobiyotasını etkileyen faktörler

Cilt mikrobiyotası belli yaş ve belirli bölgede kalıcı olmaktadır. Genellikle değişmemekle birlikte kısa süreli ortadan kalksa bile yeniden oluşabilen özelliktedir. Kalıcı floranın en önemli özelliği bozulabilen normal florayı yeniden oluşturabilmesidir. Bu durumda sık yıkama ve antiseptik maddelerin kullanımı kalıcı flora üyelerini tamamen uzaklaştıramamaktadır. Flora üyeleri azalsa da hızla tamamlanabilmektedir. Kalıcı cilt mikrobiyotasına *S.epidermidis*; sebace gland çevresinde, aksiller bölgede

Propionibacterium acnes; aerob difteroidlerden kıvrım yerlerinde *Corynebacterium minutissimum*; yüz, göğüs bölgesi, omuzlarda *Malassezia furfur* örnek verilebilir. Normal flora üyeleri; bireyin yaş, cinsiyet, hormonal değişiklikleri, beslenme özellikleri, kişisel hijyen alışkanlıkları, antibiyotik kullanımına bağlı olarak kişiye özgü karakteristik özellik göstermektedir (Şekil 4) (76).

Cilt mikrobiyotasının kişisel özellikte olması, adli olaylarda kişilerin birbirinden ayrılması ve kişinin kullandığı eşyalar üzerinde bıraktığı izlerden ayırım yapılmasını sağlayabilmektedir (76-79).

2.7. Adli Bilimlerde Mikrobiyota

Adli bilimlerin çalışma alanlarından biri olan adli mikrobiyolojide, mikroorganizmaları tanımlayabilmek suç işleyenleri tespit etmek ve masumları korumak amacıyla yapılan çalışmalar için önemlidir (78). Özellikle son yıllarda önemi anlaşılan İnsan Mikrobiyom Projesi, İnsan Genom Projesi'nin deneysel devam projesi olarak geliştirilmiştir. Projede, insan vücudunda bulunan tüm mikroorganizmaları tanımlamak, insanlar arasındaki mikrobiyom farklılıklarını ortaya koymak ve mikrobiyomların hastalıklarla ilişkilendirilip ilişkilendirilemeyeceğini araştırmak asıl amaçlarından olsa da kişiler arası özgün özellik taşınması adli bilimler için en önemli kriterdir. Yapılan bir çalışmada, farklı kişilerde benzer ve değişken bölgelerin, farklı zamanlardaki bakteri toplulukları tespit edilerek, filogenetik ağaçtaki uzaklık analizi ile birleştirildiğinde, aynı kişilerin bir ay süresince alınan üç örneğinin karakteristik özelliğini koruduğu tespit edilmiştir (60,80). Adli bilimlerde A.J. Jeffreys'in tanımladığı genetik parmakizi metodu ile yapılan DNA çalışmaları günümüzde de geçerliğini koruyan ve suç ilişkili olaylarda sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir. Ancak, bu yöntem özellikle bozunmamış, herhangi bir kırılmaya uğramamış degrade olmayan örnekler için daha verimli sonuçlar sağlarken, çoğu zaman çalışmada pahalı kit ve ekipman ihtiyacı da duyulmaktadır.

Son yıllarda yapılan araştırmalar, insan bedeni üzerindeki özel mikrobiyota alanlarının kişinin ırk ve etnik kökeni ile de yakından ilişkili olduğu belirtilmiştir. Hatta kişinin yaşam şeklinin, bulunduğu coğrafya ya da beslenme şeklinin mikrobiyotaya etki ederek, kişiye özgü bir yapı oluşturduğu bilinmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda, olay yerinden alınan

delillerin kişiye özgü mikrobiyotalarından suç ve suçlu arasındaki ilişki gösterilmiştir (81-83).

Kişinin el mikrobiyotasının karakteristik özellikler taşıması, çevresel yüzeylere bıraktığı bu izlerin kime ait olduğunu açıklamada etkili rol oynamaktadır. İnsanların, cildinden yüzeylere aktarılan mikrobiyotanın, parmak izlerine benzer olarak adli tanımlamada görev alabileceği üzerinde durulmaktadır (84). Kişisel cilt mikrobiyotasının yüzeylere aktarılması, bireyselliği ve bu izlerin adli tanımlamada kullanılma potansiyeli mikrobiyal 'parmak izi' olarak adlandırılmaktadır (85). Bilgisayar klavyelerinde, cep telefonlarında ve ev içi dokunulan farklı yüzeylere bırakılan izlerle mikrobiyota özelliklerinden faydalanarak bireylerin tanımlanabileceği gösterilmiştir (86-89).

2.8. Mikrobiyota Tespit Yöntemleri

Kişinin el mikrobiyotasının karakteristik özellikler taşıması, çevresel yüzeylere bıraktığı bu izlerin kime ait olduğunu açıklamada etkili rol oynamaktadır. Mikrobiyolojide türlerin tek tek incelenmesi oldukça zor olmakla birlikte tüm mikroorganizmaların üretilmesi mümkün olmamaktadır. Üretilenler ise vücut ortamında bulunmadıkları için metabolik ürünleri ve etkileşimleri doğal ortamını tam olarak yansıtamamaktadır. Bu sebeple moleküler alanda mikrobiyotanın değerlendirmesi kolay uygulanabilirliğinin yanında detaylı bilgi edinmeyi sağlamaktadır (90).

Mikrobiyom çalışmalarında, mikroorganizma DNA'sı izole edilerek PCR, klonlama, sekanslama gibi farklı yöntemler tercih edilebilir. İnsan mikrobiyom çalışmalarında en sık, prokaryotlarda bulunan 16S rRNA incelenir. Bu inceleme ile bakterinin filogenetik tanımlanması sağlanır. Ancak mikrobiyomun fonksiyonu hakkında doğrudan bilgi sağlanamaz. Metagenomik çalışmalar ise, herhangi bir mikroorganizma topluluğunun tüm genomlarının DNA sekanslamasına dayalı analizi olarak ifade edilir (91-93). Elde edilen sekans verileri karşısında referans genomlara göre haritalanarak konumlandırılır. Metagenomik çalışmalarda örnek içerisinde mevcut olan mikropların tanımlanmasını sağlarken, göreceli olarak yoğunluklarının belirlenmesini de sağlar. Yani 16S rRNA sekanslama ile incelenen bölgede hangi mikroorganizmanın olduğunu belirlerken, tüm genom "Shotgun" metagenomik sekanslama buna ek olarak fonksiyonunun ne olduğu sorusuna da yanıt verebilir (94,95). Mikrobiyom çalışmalarında, kültüre bağlı olmayan metodlarda, üretilmeyen ve saptanamayan mikroorganizmalar tanımlanabilir. Bu gibi

çalışmalarda bakteriyel popülasyonlar dışında deri ile ilişkili maya, mantar ve viral topluluklar da moleküler metodlarla tespit edilebilir (96,97).

2.8.1. Ribotiplendirme:

Çeşitli amaçlar için genotiplendirme yaparken bakterinin tüm genomunun dizi analizini tamamlamak pratik olmamakla birlikte, maliyet ve zaman kaybı açısından da dezavantaj olabilmektedir. Bu sebeple, tüm genomu temsil edecek DNA bölgelerinin analizini yaparak, kıyaslanması çoğu zaman yeterli sayılabilir. Ribotiplendirme, bakterinin 16S ve 23S ribozomal RNA molekülünü kodlayan DNA'nın tümünün veya bir bölümünün restriksiyon enzimleri ile bir veya birden fazla parçaya ayrılması olarak tanımlanır. Restriksiyon enzimleri ile ayrılan bölgeler jel elektroforezinde yürütülerek genotiplendirme kullanılan moleküler yöntemdir.

2.8.1.1. Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi (RFLP):

Restriksiyon endonükleazlar olarak da adlandırılan restriksiyon enzimleri, DNA'ya tanıma bölgelerinden bağlanarak, DNA'nın her iki zincirden kesen enzimlerdir. Bakterilerin koruma mekanizmalarının anlaşılmasından sonra, 1970'lerin başında keşfedilmişlerdir. Bakteriler, karşılaştıkları yabancı bir DNA molekülünü (virus gibi) bu enzimlerle keserek fonksiyon kaybına sebep olurlar.

Restriksiyon enzimleri, genellikle 4-6 baz çiftten oluşurken, iki DNA zincirinde de aynı yönde (5'->3') okunurlar. Restriksiyon enzimleri, belirlenmiş olan standartlarla isimlendirilirler. İsimler çoğunlukla üç harften oluşur. İlk harf enzimin elde edildiği cinsi ifade ederken, ikinci ve üçüncü harfler türü belirtir. Başka harf eklendiği durumlar; suş ya da tip için kullanılır. Örneğin; EcoR1 restriksiyon enzimi; *Escherichia coli* R1 suju'ndan, TaqI enzimi *Thermus aquaticus*'tan elde edilmiştir.

İlk tanımlanan enzimlerden biri olan EcoR1, 5'-GAATTC-3' dizisini tanır ve DNA'yı bu bölgeden kesmektedir. Komplementleri olan CTTAAG dizisi, yine 5'->3' yönünde okunduğunda GAATTC dizisi olarak okunur. Bu özelliği taşıyan dizilere "palindrom diziler" denir (Tablo:1)(98) . Her iki DNA zincirinde de kesim yapılarak (hidroliz), restriksiyon fragmanları oluşur. Oluşan parçaların boyutu, enzimin DNA'yı kestiği sıklığa göre değişiklik göstermektedir. Örneğin; AluI enzimi tanıdığı dizi olduğu durumda (AGCT= 4 nükleotid) DNA'yı her 256 ($4^4=256$) nükleotidde bir, BamHI (GGATCC = 6 nükleotid) her 4096 ($4^6=4096$) nükleotidde bir kesmektedir.

Tablo 1: Palindrom diziler

Restriksiyon Endonükleaz	Tanım Dizisi (5' - >3')	Kaynağı
EcoRI	GAATTC	Thermus aquaticus
HindIII	AAGCTT	Haemophilus influenzae Rd
HaeIII	GGCC	Haemophilus aegypticus
TaqI	TCGA	Thermus aquaticus
Sau3AI	GATC	Staphylococcus aureus 3A
NotI	GCGGCCGC	Nocardia otitidis-caviarum

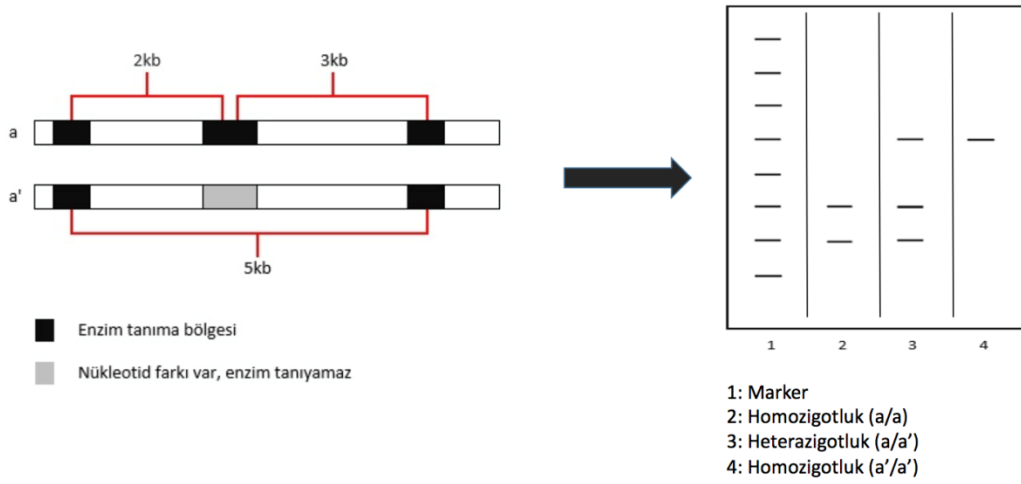
Restriksiyon enzimleri DNA'yı iki tür kesebilir. Bunlardan, asimetric olan kesimde oluşan parçalarda tek zincirli kuyruklar (yapışkan uçlar) taşır. Simetric olan kesimde ise, iki DNA zincirindeki palindromik diziler simetric olarak kesilir ve oluşan parçaların ucu küt özellik gösterir.

Restriksiyon enzimleri, DNA'yı spesifik olarak kesme özelliklerine göre de farklı tiplendirilir. Tip I ve tip III gruplarında olan enzimler DNA'yı spesifik ve kararlı bir şekilde kesmedikleri ve kesim sonrası elde edilen parçalar çok büyük olduğu için rutinde çoğu zaman tercih edilmemektedir. Bunlar, daha çok genom analizi çalışmalarında kullanılmaktadır. DNA'yı spesifik olarak kesebilen enzimler ise tip II enzimler olarak sınıflandırılmıştır. Tip II endonükleazlar, 4-13 nükleotidden oluşurlar ve kullanımda daha çok 4-6 nükleotid uzunlukta olanlar tercih edilmektedir.

Kesim sonrası DNA'da oluşan yapışkan uçların tekrar birleştirilmesinde DNA ligaz enzimleri görev yapar. Eğer kesim reaksiyonu sonucunda ucu küt uçlar oluşmuşsa, ligasyonun gerçekleşebilmesi için terminal deoksinükleotid transferaz (TDT) enzimi kullanılmaktadır.

Genom dizisinde bulunan farklılıklar restriksiyon enzimleri ile tanıma bölgelerinden kesilerek tiplendirme için kullanılır. Farklı bireylerde veya organizmalarda, aynı enzimle yapılan kesim reaksiyonu sonucunda farklı uzunlukta DNA parçaları oluşur. Bu yöntem

restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (RFLP) olarak tanımlanmaktadır. Restriksiyon endonükleazlar ile kesilen DNA parçaları agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmektedir. Bu görüntüleme farklı boyutlardaki parçalar tanınabilir ve restriksiyon bölgeleri haritalanabilir (Şekil 5) (98).



Şekil 5: Restriksiyon endonükleazlar ile kesilen DNA parçalarının gösterimi

2.8.1.2. PFGE ile Restriksiyon Enzim Analizi

PFGE (Pulsed-Field Gel Electrophoresis) yöntemi klinik mikrobiyolojide epidemiyolojik olaylarda bakterilerin birbirleri ile olan akrabalık ilişkisinin anlaşılması amacıyla kullanılmaktadır. Bununla birlikte mikroorganizmanın tüm genomunun incelenmesi durumunda da tercih edilebilmektedir.

Tüm genomun tam anlamıyla incelenip kıyaslanabilmesi için 10 megabazlık DNA parçalarının ayrımı gerekmektedir. Schwartz ve Cantor, 1983 yılında ilk defa bu sorunu çözecek bir tekniği geliştirmişlerdir. Uygulamada elektrik akımının yönünün periyodik olarak değiştirilmesi sonucunda 50 megabazdan daha büyük kromozomal DNA parçalarının ayrıştırılabilmesi sağlanabilmektedir. Çünkü farklı boyutlardaki gen parçalarının akımın değişen yöne adapte olması, ilerleme sürelerinde farklılığa sebep olmaktadır. Periyodik olarak akım yönünün değiştirilmesi ile ortalama 24 saat gibi uzun bir süre sonunda gen parçalarının boyutlarına göre ayrımı sağlanabilmektedir. PFGE'nin en sık iki tipi bulunmaktadır. FIGE (Field-Inversiyon Gel Electrophoresis) tipinde elektrik akımları ileri

ve geri olarak belirli sürelerde hareket ederler. İkinci ve en yaygın kullanılan tipi ise, CHEF (Contour-clamped Homogeneous Electric Field), altıgen biçiminde 120 derecelik açılarda yerleştirilmiş, 24 ayrı elektrottan akım sağlanmaktadır. Bu sistemle DNA bantlarının daha net ve düz görüntülenebilmektedir (98-101).

2.8.2. MLST (Multiple Locus Sequence Typing) :

Ribotiplendirme uygulamalarının en önemli kısıtlamalardan biri analizlerin sadece tek bir gen üzerinde odaklanmasıdır. MLST (Multiple Locus Sequence Typing) bu sorunu ortadan kaldıran ve bir tür içerisindeki suşların karakterizasyonunda kullanılan önemli bir tekniktir.

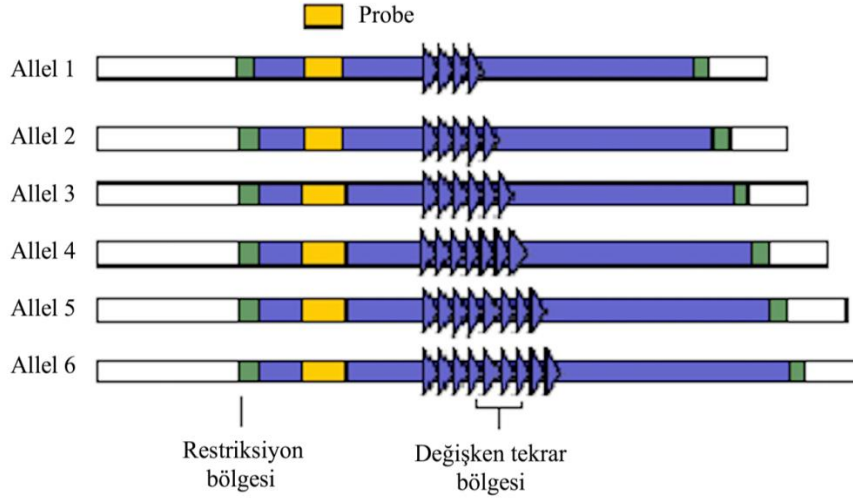
MLST bir organizmadaki “yaşamsal faaliyetleri kodlayan” (house-keeping) genlerin dizilimleri ile aynı organizmanın farklı suşlarındaki özdeş gen gruplarının karşılaştırılması prensibine dayanır. Bu genler, hücrenin temel fonksiyonlarını kodlar. Her bir gen için yaklaşık 450 bp büyüklüğündeki bölge, PCR ile çoğaltılarak dizilir. Daha sonra karşılaştırmalı dizileme verileri dendogramlar ile analiz edilir (101,102). Her türe özgü bir sayı verilerek tamamlanır. Her dizi tipi arasındaki benzersizlik, 0’dan (suşlar benzerdir) 1’e (suşlar sadece uzaktan ilişkilidir) kadar olan bağlılık uzaklığı, dendogram çizilerek ifade edilir (103).

MLST yöntemi ile çok yakın akraba suşlarını dahi ayırt edebilmesi sağlanabilmektedir. Bu nedenle organizmaları tür seviyesine kadar tanımlamada, genomun tamamının dizilenmesine göre çok daha kolay uygulanabilir bir yöntemdir. Yapılan çalışmalarda, MLST analizlerinde incelenen yedi genle ve gen başına 20 allele, birkaç milyar farklı genotipin ayrımının yapılabildiği gösterilmiştir. Bunun aksine, MLST organizmaları filocoğrafik ve konak spesifitesi hakkında ipuçları vermesi bakımından oldukça avantajlı olmasına rağmen, tür seviyesinin üzerinde karşılaştırma yapabilmek için dezavantajlı olarak kabul edilir (104).

2.8.3. Variable Number Tandem Repeats (VNTR)

Genomda farklı sayıda ve ardışık şekilde tekrarlayan diziler VNTR (Variable Number Tandem Repeats) DNA dizileri olarak tanımlanır. VNTR DNA profillemeye tekniği ilk defa 1985’te Alec Jeffreys tarafından uygulanmıştır. DNA’nın belirli bölümlerinde birbirini tekrarlayan dizilerin olduğu ve bu dizilerin tekrar sayılarının kişiler arasında farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Genellikle aynı tekrar birimlerinden oluşmalarına rağmen

farklı kompozisyondaki nükleotid dizilerinden de oluştukları tespit edilmiştir. Değişken sayıda tekrarlı dizilerden oluşan VNTR'lar yaklaşık 20-100 bp uzunluktadır (Şekil 6)(105).



Şekil 6: Farklı sayıda ve ardışık şekilde tekrarlayan VNTR dizileri

Oldukça polimorfik yapıdan oluşan VNTR dizileri çok değişken sayıda allel ve yüksek heterozigotluk özelliğine sahiptir. Bu özelliklerinden dolayı VNTR dizileri; popülasyon genetiği gibi çeşitlilik araştırmalarının yanı sıra adli alanda biyolojik delil incelenme, kimliklendirme, anne-babalık tayini, doğum öncesi tanıda maternal kontaminasyon, bazı genetik hastalıkların tanısında ve mikrobiyolojik incelemelerde suç tiplendirilmesinde kullanılan bir yöntem olarak çok farklı alanda kullanılmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri Federal Tahkikat Bürosu (FBI) DNA tipleme için 13 VNTR analizini standartlaştırmış ve adli vakalarda kimlik tespiti için “CODIS” veritabanını düzenlemiştir. Başka ülkelerde de aynı amaç için bu testler kullanılarak veritabanları oluşturulmuştur (102,106).

2.8.4. Dizileme

Günümüzde kullanılan moleküler genetik yöntemler farklılıklar gösterse de, temelde tümünün amacı moleküler mekanizmanın aydınlatılması veya birbiri ile olan ayrımlarının sağlanabilmesidir. DNA dizileme, bir DNA parçacığının baz dizisinin belirlenmesi amacıyla uygulanır ve yöntemler arasında altın standart olma özelliğini halen korumaktadır. DNA dizileme, genetik bozukluklara yol açan DNA baz değişimlerinin belirlenmesi topluma özgü gen polimorfizmlerinin bulunması, mikrobiyal hastalıklara neden olan mikroorganizmaların

saptanması, adli tıp tanımlamalarına yönelik testler gibi çok farklı alanlarda kullanılabilir. “Shotgun” ve pirosekans dizileme yöntemleri de aynı amaçla kullanılsa da, sanger dizileme en çok tercih edilen dizileme yöntemidir.

2.8.4.1. Klasik DNA Dizi Analizi Yöntemleri

Maxam-Gilbert Dizileme

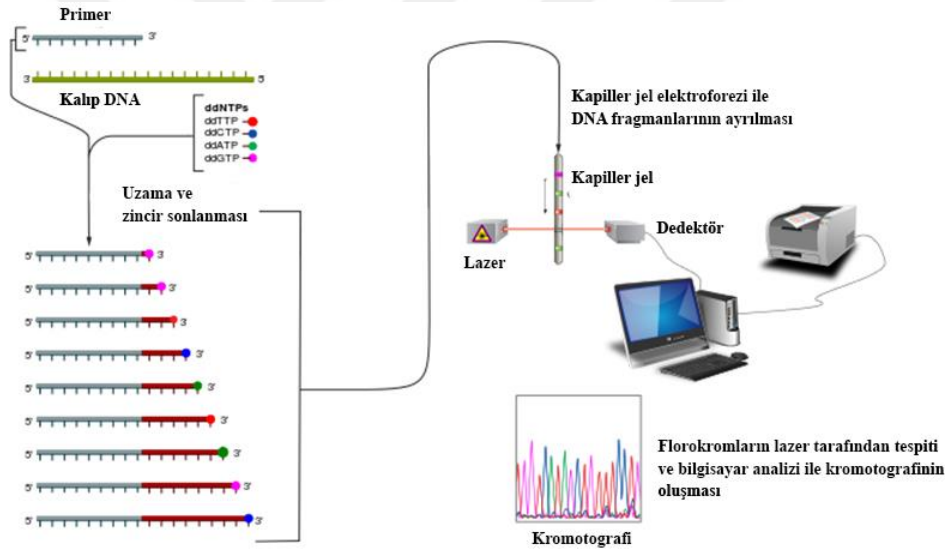
Maxam ve Gilbert kimyasal dizileme yöntemi, 1976’da Harvard Üniversitesi’nden Allan Maxam ve Walter Gilbert tarafından geliştirilmiştir. Temel olarak DNA’nın farklı kimyasallar kullanılarak modifikasyonunu, daha sonra değişikliğe uğrayan nükleotidlerin bulunduğu noktalardan kırılma prensibine dayanan dizileme yöntemidir. Bu yöntem ile dizilenecek DNA, 5’ ucunda P ile ya da floresan bir boya ile işaretlenir. DNA birbirinden ayrılarak ya da DNA bölgesine uygun bir restriksiyon enzimi ile kesilerek DNA’nın bir ucundan işaretlenir. Sonra ki aşamada, DNA molekülleri dört tüpe ayrılarak (A, C, G, T) restriksiyon sonunda her tüpe farklı pozisyonlardaki hedef nükleotidlerden kırılmış DNA parçaları elde edilir. Sonuçta kırılmanın olduğu pozisyona göre hepsi 5’ ucundan işaretli ancak boyları birbirinden farklı bir dizi DNA parçası elde edilir. Reaksiyon sonucunda boyları kısalan DNA dizileri büyüklüklerine göre jel elektroforezde birbirinden ayrılır ve otoradyografi uygulanarak bantlar görünür hale getirilir.

Sanger Dizileme Yöntemi

Frederick Sanger tarafından geliştirilen Sanger yöntemi enzimatik yolla zincir sonlandırma prensibiyle uygulanan, en sık kullanılan analiz tekniğidir. Dizileme reaksiyonda tek iplikli DNA kalıp olarak kullanılır. Reaksiyonda DNA primeri, DNA polimeraz, normal deoksinekleotitfosfatlar (dNTP’ler) ve DNA zincir büyümesini sonlandıran modifiye edilmiş nükleotitler (dideoksinekleotidler; ddNTP) kullanılır.

Sanger dizileme için, kalıp DNA numunesi dört ayrı dizileme reaksiyon hazırlanır ve her birinde floresan ile işaretlenmiş dideoksinekleotitlerden (ddA, ddG, ddC ve ddT) sadece biri bulunur. Polimeraz zincir reaksiyonunun (Polimerase Chain Reaction: PCR) temel aşamaları ısı bloklarında gerçekleştirilir ve zincirin uzama evresinde DNA polimeraz, deoksinekleotidi veya dideoksinekleotidi zincire ekleyerek sentez tamamlanır. Reaksiyonda

dideoksinükleotidin (ddA, ddC, ddG veya ddT) eklendiği parçalarda uzama sonlanır. Sekans PCR'ı işlemi sırasında uzayan DNA zincirinin sonuna floresan işaretli ddNTP geldiğinde fragman floresan ışığa yapma kapasitesi kazanır (Şekil:7)(107). Sanger dideoksi dizilemede, 3' ucun dideoksinükleotid eklenerek, sentezi durdurulmuş farklı uzunluktaki DNA fragmanları oluşur. Bu ürünler elektroforez ile birbirinden ayrılır. Elektrik alan içerisinde, negatif yüklü DNA fragmanları pozitif elektroda doğru hareket ederler. Elektroforez süresince DNA'ya bağlanan floresan boya karakteristik olan dalga boyunda ışığı geri yansıtır ve yansıyan ışık demeti bir dedektör tarafından kaydedilir. Bu veriler bilgisayar programlarında değerlendirilerek sonuçlar grafiksel ya da matematiksel olarak bilgisayar ekranına aktarılır. DNA fragmanının hızı mevcut moleküler ağırlığı ile ters orantılıdır. Bu süreç ile birlikte birbirinden bir baz farklı olan DNA fragmanları dahi ayrılabilirken, 6 bazdan 1.000 baza kadar güvenli okuma yapılabilmektedir (108-110).



Şekil 7: Kapiller jel elektroforezde yürütülen DNA fragmanlarının sanger yöntemiyle dizilenmesi

2.8.5. Yeni Nesil Dizileme

Son yıllarda kullanımı artan yeni nesil dizileme (YND) ile tanı, tedavide kişiselleştirilmiş araştırma uygulamalarında önemi hızla artmıştır. Sanger sekanslama teknolojisinde bir reaksiyonda, tek bölge dizileme söz konusu iken YND teknolojilerinde aynı anda milyonlarca fragmanın dizilenmesi mümkündür. YND ile ilgili birçok sistem bulunsa da, hepsinin temel prensibi, öncelikle analiz edilecek DNA bölgesinin parçalara

ayrılarak, uçlarına spesifik sentetik DNA dizileri eklenmesi ve daha sonra bu milyonlarca fragmanın eş zamanlı olarak analiz edilmesidir. YND’de incelenen bölgenin aynı anda onlarca kez dizildiğinde, tespit edilen herhangi bir baz değişikliği referans diziyile karşılaştırılmaktadır.

Yeni Nesil Dizilemede dizilenecek olan DNA bölgesi ilk önce parçalara ayrılarak bir veri oluşturulur, daha sonra bu parçaların uçlarına adaptör diziler ve barkod dizileri eklenerek reaksiyonda birbirinden farklılıkları sağlanır. Katı zemine adaptörlerle tutturulmuş olan tek zincir halindeki DNA parçalarına, işaretli bazlar eklenerek diğer zincirin sentezi tamamlanır. Reaksiyonda eklenen her yeni baz; ışık, pH veya iyon dengesinin değişimine sebep olur. Tespit edilen değişimler, kimyasal ve foto sensörler ile bazın eklendiği yer belirlenerek veri tabanına kaydedilir. Reaksiyon tamamlandığında, oluşan verilerle kompleks biyoinformatik analizler yapılır.

YND sistemlerinin en büyük avantajı, normalde birçok basamaktan oluşan dizi analizi veya diğer yöntemlere göre son derece optimize olmasıdır. Ayrıca özellikle analiz aşamasının sistem üzerinde gerçekleşmesi, uygulayıcı kaynaklı hata oranını en aza indirmektedir. YND sistemlerinin en önemli dezavantajı ise, şu an için sistem maliyetlerinin oldukça yüksek olmasıdır.

YND teknolojilerinde meydana gelen olağanüstü gelişmelerin moleküler genetiğe etkisi özellikle son yıllarda artmıştır. YND’nin başarılı uygulamalarından olan tüm ekzom sekanslama (Whole Exome Sequencing: WES) ve tüm genom sekanslama (Whole Genome Sequencing: WGS) geni bilinen bölgenin moleküler tanının konmasında veya yeni genlerin tanımlanmasında oldukça önemli bir tekniktir. Ayrıca hedeflenmiş DNA dizi analizi uygulamaları, özellikle ayırıcı tanıda heterojenite gösteren bölgelerin tamamının tek seferde, bir panel içerisinde dizilenmesi oldukça iyi verim sağlamaktadır.

Bununla birlikte üçüncü nesil YND teknolojilerinde ise, dizilenecek DNA bölgesinin veya tümünün katı bir yüzeye sabitlenerek ya da bir gözenek hattı boyunca hareketi sağlanır. Sentez aşamasında dizi analizinin eş zamanlı görüntülenmesi, tanınması, tekrardan okunarak uzama zincirlerine eklenmesi prensibine göre çalışmaktadır. Üçüncü nesil YND teknolojilerine “Pacific Bioscience”, “Complete Genomics” ve “Oxford Nanopore” şirketlerinin geliştirdiği teknolojileri örnek verilebilir. Bu teknolojilerin en önemli özelliği PCR aşaması gerektirmeden herhangi bir canlıya ait tüm genomu, bir günden daha kısa bir

sürede, çok daha az maliyetle, yüksek kalitede ve daha uzun okuma zincirleri oluşturarak dizileme kapasitesinde olmalarıdır (111).

Prokaryotlarda rRNA'yı kodlayan 16S, 23S ve 5s olmak üzere 3 farklı gen bölgesi taşımaktadır. Özellikle 16S ve 23S rRNA gen bölgeleri yüksek derecede korunmuş dizilerdir. 16S ve 23S rRNA bölgelerinin çoğaltılması, transkripsiyon bölgesi içindeki polimorfizmleri ortaya çıkarmakta ve bakteriyal türlerin karakterizasyonu tespit edilebilmektedir. PCR teknolojisi ile 16S rRNA genlerinin direkt sekansı bilinmeyen bir suşun tek bir basamak ile tanımlanmasında oldukça etkili ve önemli bir yöntemdir, ancak bakteriyel tiplendirme yöntemlerinde, dizileme en ideal yol olarak görülse de, her izolatın tüm genomunun sekanslanması her zaman pratik olmayabilir (112).

Dizileme, tiplendirme veya farklı yöntemlerle, cins ve tür düzeyindeki çeşitlilikleri tespit edilebilmektedir. Çoğaltılmış bölgenin restriksiyon analizi veya sekansı, yöntemin ayırım gücünü yükseltmektedir.

Farklı yöntemlerle elde edilen veriler ve filogenetik analizlerle türler arasındaki ilişkiyi ortaya koymayı sağlayan önemli veriler elde edilir (113,114).

2.9. Biyoinformatik Data Analizi

YND cihazları laboratuvar aşamalarının tamamlanmasıyla analize hazır büyük bir ham veri oluşturmaktadır. YND'de en önemli aşamalarından biri elde edilen verilerin düzenli hale getirilerek analiz edilebilecek şekile dönüştürülmesidir (115). Bu aşamada birbirini tamamlayan farklı programlar kullanılarak, 15-200 nükleotidlik bölgenin çok sayıda okuma yapılmış DNA fragman dizisindeki bazlar tespit edilir ve hizalama işlemine tabi tutulur. Hizalama işlemi, kısa okuma dizilerinin bir referans genom üzerinde işaretlenme işlemidir. Okuma uzunlukları ve tespit edilen baz kalitelerinin farklı olması bu durumu daha karmaşık hale getirmektedir (116). YND'de hizalanmış okumalar "Sequence Alignment/Map" (SAM) ve "Binary Alignment Map" (BAM) dosya formatında oluşturulmaktadır. Hizalama işlemi sonrası ilk aşama, referans genoma göre farklılıkların belirlenerek varyantları tanımlama aşamasıdır (117,118). Bu aşamada en önemli noktalardan biri, dizileme sırasında kirliliklerden oluşabilecek yalancı pozitifliklerin engellenebilmesidir. Aksi durumda, gerçekte var olmayan bir farklılık tanımlanabilir. Çeşitli farklılıklar bulunan varyantlar "Variant Calling Format" (VCF) dosya formatında kaydedilerek genetik analize hazır, içerisinde binlerce varyant bulunduran bir veri özelliği

taşıır. (116). Amaca yönelik çalışılan YND yönteminde, mevcut varyantlar filtrelenerek, ilgili veriden fayda sağlanılır.

2.10. Filogenetik Analiz ve Filogenetik Ağaç Oluşturma

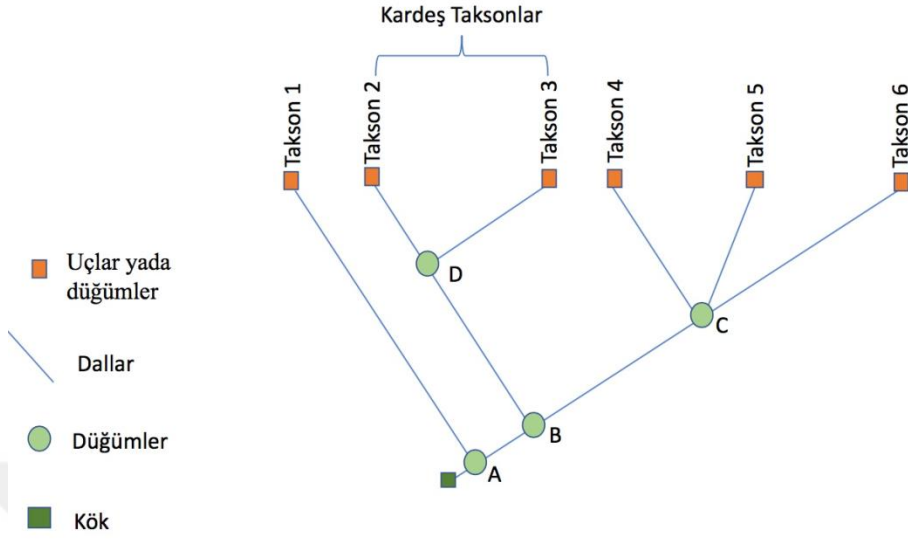
Taksonların köken tarihi ‘filogeni’ olarak tanımlanır. Filogenetik analiz çeşitli türler arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacıyla yapılır. Moleküler filogenetik çalışmalar, DNA’nın karakterini belirleyerek genler, taksonlar veya türler arasında bulunan evrimsel bağı göstermede en uygun ve elverişli analiz yöntemleridir (119).

Filogenetik analizlerde ilk olarak incelenecek dizinin elde edilir ve daha önceden yespit edilen referans dizilerle karşılaştırılabilir. Moleküler filogeni alanında kaydedilen gelişmeler neticesinde çeşitli türlerden elde edilen diziler “GenBank”, “EMBL” gibi özel veritabanı sistemlerinde toplanmıştır (120).

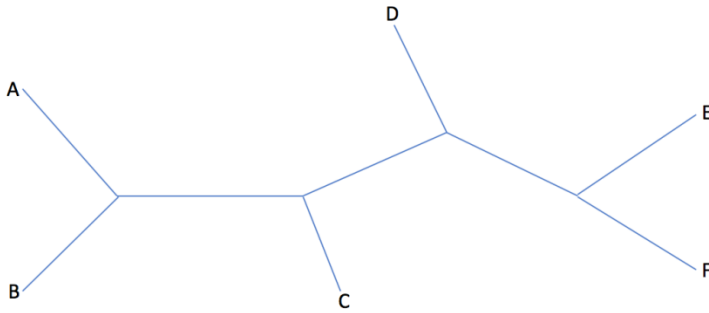
Moleküler filogenetik analiz, temel olarak dört aşamada sıralanabilir. Bunlar; hizalama, yer değişiminin belirlenmesi, filogenetik ağacın oluşturulması ve filogenetik ağacın değerlendirilmesi olarak tanımlanabilir.

Dizilerin hizalanmasıyla hesaplanan genetik uzaklık, her bir takson çifti arasındaki mesafelerin bir matrisinin oluşturulmasında kullanılmaktadır ve oluşturulan mesafeler ile filogenetik ağaç oluşturma sağlanabilmektedir (121).

Oluşturulan filogenetik ağaç, dallanma modelini ve bazı durumlarda zamanını tanımlarken, türlerin sırasını ve taksonlar arasındaki akrabalığı belirtir. Filogenetik ağaçlar dallardan ve düğümlerden oluşur. Dallar, türler arasındaki popülasyonun zaman içerisindeki uyumunu gösterirken, filogenetik ağaçlar köklü ya da köksüz oluşturulabilir (Şekil 8, 9)(122). Köklü filogenetik ağaçlarda soy hattının nereden köklendiği bilindiği için ayrılma olayı belirlenebilir. Ancak, köksüz ağaçlarda türlerin önce ya da sonra açığa çıktığı ifade edilemez (123,124).



Şekil 8: Köklü filogenetik ağaç çizimi



Şekil 9: Köksüz filogenetik ağaç çizimi

Filogenetik ağaç oluşturulurken genellikle üç yöntem kullanılır; ikisi karakter temelli 'Maksimum Parsimony' ve 'Maksimum Likelihood' yöntemleridir, diğeri ise 'Uzaklık (Distance)' yöntemidir.

Maximum Parsimony (Maximum Parsimony: MP) yöntemi ile basit bir açıklama yapılarak veriler yorumlanır. İncelenen diziler ya da genetik uzaklıklar ile uyumlu bir ağaç elde etmek için gerekli olan en az sayıda mutasyonun saptanmasına dayanan yöntemdir. MP analizi ile dizi çiftleri arasındaki benzerliklerin çok güçlü olduğu ve az sayıda dizinin olduğu durumlarda en iyi sonuçlar elde edilir (125).

Maximum Likelihood (Maximum Likelihood: ML) yöntemi MP yöntemine alternatif olarak oluşturulmuştur. Bilgiyi daha etkili kullanmak ve oluşturulabilecek birçok ağaç modelinden en iyi ağacı seçme amacıyla istatistiksel testler kullanılmaktadır (122). Farklı tipteki nükleotid değişikliklerinin oluşma olasılıklarını tanımlayan ve dal uzunlukları bilinen belli bir ağaç verildiğinde, belirli olan DNA dizisi setini elde etme olasılığı belirlenebilir. Bu veriyi elde etmek için, bir bilgisayar programı her ağaç topolojisini değerlendirerek veya verilen belirlenmiş bir karakter modeli altında gözlenen verinin oluşma olasılığını değerlendirebilir. Bununla birlikte, bu teknikle çok büyük veri setleri, kapsamlı analizler tam olarak yapılamamaktadır (123).

Uzaklık (Distance) yönteminde, filogenetik ağaç oluştururken belirlenen dizide, her bir çift arasında değişikliklerin sayısı temel alınır. Birbirlerine genetik uzaklığı en az olan türler birleştirilerek bir ağaç oluşturulurken, aralarında az sayıda nükleotid değişikliği olan bu dizi çiftleri komşu olarak tanımlanır. Uzaklık metodları ile hizalanan diziler arasındaki farklılıkların sayısına göre ağaç oluşturulur ve filogenetik ağacın dalları boyunca ortaya çıkan değişiklik sayısı diziler arasındaki uzaklığı ifade eder (120,123).

Uzaklık yönteminde taksonlara ait filogenetik diyagramlarının belirlenmesinde, bilgisayar programı kullanılır (123). Uzaklık yöntemi, kullanılan diğer yöntemlere göre daha kolay ve hızlı kullanım sağlamaktadır. Bu yöntem içinde en çok kullanılanlar; “Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA), Neighbour Joining (NJ), Fitch-Morgoliash (FM)” yöntemleri olarak sıralanabilir.

Bununla birlikte, filogenetik ağaç oluşturulmasında en çok tercih edilenler arasında FREE TREE, MEGA, PAUP, PRIMER, PHYLIP, MRBAYES programları bulunmaktadır (125,126).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

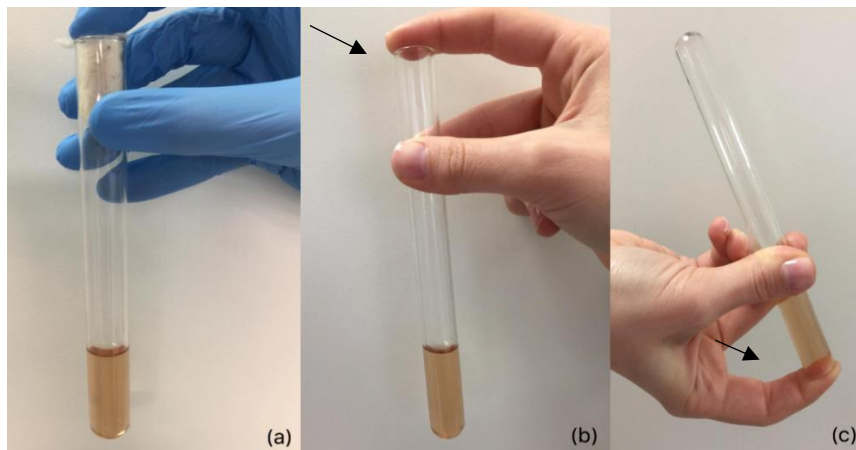
3.1. Materyal Temini

Çalışmamızın laboratuvar uygulamaları İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yürütülmüştür. Çalışmanın Etik Kurul Onayı (Ek-1) alınarak, araştırmaya katılan kişilerin Gönüllü Onam Form'ları (Ek-2) doldurulmuştur. Çalışmamızın laboratuvar aşaması 2018 yılı, Temmuz ayında başlanmış ve 2019 yılı Şubat ayında tamamlanmıştır.

3.2. Materyal Özellikleri

Çalışmaya 5 erkek, 5 kadın olmak üzere 10 kişi katılmıştır. On gün boyunca ve günün her hangi bir saatinde alınan el mikrobiyota örnekleri 100 reaksiyona tamamlanmıştır. Ayrıca çalışmamızda 3 kişinin kişisel bilgisayarlarından alınan örnekler de çalışmaya dahil edilmiştir.

Örnekler kişilerin sağ el, işaret parmak ucunun yaklaşık 10 sn sıvı besiyerine (Tryptic Soy Broth) teması ile sağlanmıştır. Temas süresi boyunca, sıvı besiyeri alt üst yapılarak örnek konsantrasyonu arttırılmıştır (Şekil 10).



Şekil 10: (a) Sıvı besiyeri, (b) Sağ işaret parmağından örnek alımı, (c) Sıvı besiyerinin parmak yüzeyine teması

Çalışmaya katılan kişilerin cinsiyet dağılımı, mesleki bilgisi, bilinen bir hastalığı, kullandığı ilaç bilgisi, gün içerisinde el yıkama sıklığı ve el florasını etkileyebilecek önemli koşullar belirlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2: Çalışma grubuna ait özellikler

Örnek No	Cinsiyet	Yaş	Meslek	Bilinen Bir Hastalık	Sürekli Kullandığı Antibiyotik	Gün İçinde El Yıkama Sayısı	El Florasını Etkileyebilecek Önemli Özellikler
1. Kişi	E	52	Öğretim Üyesi	Yok	Yok	13-14	Sık sıvı el antiseptiği kullanımı,
2. Kişi	E	40	Öğretim Üyesi	Yok	Var	9-10	Sık sıvı el antiseptiği kullanımı, Akne tedavisi için topikal antibiyotik kullanımı
3. Kişi	K	38	Öğrenci, Laboratuvar Personeli	Yok	Yok	10-11	Sık sıvı el antiseptiği kullanımı, laboratuvar çalışanı
4. Kişi	K	30	Laboratuvar Personeli	Yok	Yok	10-11	Enfeksiyon-Bakteriyoloji laboratuvar çalışma ortamı
5. Kişi	K	26	Öğrenci	Yok	Yok	9-10	Ulaşım aracı olarak metrobüs kullanımı
6. Kişi	K	29	Laboratuvar Personeli	Yok	Yok	13-14	Sık el yıkama
7. Kişi	E	53	Temizlik Personeli	Yok	Yok	13-14	Daha çok dış alanda görev alan personel
8. Kişi	K	34	Temizlik Personeli	Yok	Yok	15 ve üstü	Temizlik görevlisi olarak sürekli deterjan kullanımı
9. Kişi	E	34	Laboratuvar Personeli	Yok	Yok	9-10	İzole çalışma alanı
10. Kişi	E	29	Doktor	Yok	Yok	11-12	Poliklinikte aktif hasta muayene

3.3. Kullanılan Kit, Kimyasal ve Cihazlar

3.3.1.1. Kùltürde kullanılanlar:

- Sıvı Besiyeri (Tryptic Soy Broth)
- Dream Taq Master Mix (Thermo)
- 1,5 mL Eppendorf Tüp (Axygen)
- Etüv (Thermo)
- Vorteks (WiseMix)
- Mikro Santrifüj (Eppendorf)

a) PCR ve jel görüntüleme için kullanılanlar:

- 23S Primer
- 16S Primer
- *S.epidermidis* Primer
- Taq Hot Start (TaKaRa)
- 10X PCR Buffer (TaKaRa)
- dNTP Mixture (TaKaRa)
- ECOR1 (TaKaRa)
- 10X H Digestion Buffer (TaKaRa)
- HINDIII (TaKaRa)
- 10X M Digestion Buffer (TaKaRa)
- 10X Loading Buffer (TaKaRa)
- TaKaRa 100 bp DNA Ladder (TaKaRa)
- Steril DNase/RNase Free H₂O (Thermo)
- Agarose Molecular Grade (BioMax)
- 10X TBE Buffer (Wisent)
- Etidium Bromür (Invitrogen)
- 0,2 µl PCR tüpü (Axygen)

- Pipet uçları (Gilson)
- Thermal Cycler (Applied Biosystems)
- Vorteks (WiseMix)
- Mikro Santrifüj (Eppendorf)
- Jel Görüntüleme Sistemi (Biorad-ImageLab)
- Hassas Tartı (Radwag)
- Isıtıcı Blok (WiseMix)
- Elektroforez Tankı (Thermo)
- Çeker Ocak
- -20 °C Derin Dondurucu (Arçelik)
- 2-8 °C Buzdolabı (Vestel)

3.3.2. Metodun Uygulanması

3.3.2.1. Kültür Aşaması

Parmak ucundan alınan örnekler 2-8°C'de saklanan Triptik Soy Agar besiyeri kullanılarak zenginleştirme sağlandı. Çalışmaya katılan 10 bireyden, 10 gün boyunca sağ el, işaret parmak ucundan Triptik Soy Agar besiyerine alınan örnekler 37 °C'de 24 saat süreyle inkübe edildi.

3.3.2.2. DNA İzolasyonu

Kişilere ait bakteri DNA izolasyonu için triptik soy agar besiyerinden 1 mL kullanıldı. Etüvden alınan örnekler 30 sn vorteks (karıştırıcı) ile karışımı sağlandıktan sonra örnekler 1.5ml'lik eppendorfa alındı. Örnekler 14.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası oluşan üst faz pipetle toplanarak atıldı ve pellete 250 µl 1X PCR Buffer ilave edildi. Pipetaj ve kısa süreli vorteks sonrası tekrar 14.000 rpm'de 1 dk santrifüj yapıldı. Üst faz pipetle toplanarak atıldı. Örneklerin üzerine 250 µl 1X PCR Buffer ilave edildi, pipetaj ve kısa süreli vorteks

tekrar edildi. Örneklere 100 °C’de 10 dk kaynatma işlemi uygulanarak 14.000 rpm’de 1 dk santrifüj yapıldı. PCR aşamasına kadar DNA’lar – 20 °C’de saklandı.

3.3.2.3. PCR Aşaması

Bakteri genomunun çoğaltılmasına yönelik 16S ve 23S gen bölgelerine özgü tasarlanan primerler ve *S.epidermidis*’e ait hedef bölge VNTR primerleri ile PCR reaksiyonları gerçekleştirildi (Tablo 3) (127,128).

Tablo 3: PCR reaksiyonlarında kullanılan primer dizileri

Primer Adı	Dizi
SE-1F	GCTGATGGGGAAGAAGTTCA
SE-1R	AACGCTCCTAAACCTGCAAA
SE-3F	TTTCCGGTATGTGAACCCTTA
SE-3R	TGACACTAGTCGCACAGGAA
SE-0331-F	ATGGGGAAGAAGTCCATGTA
SE-0331-R	CATTAGCTCCTGTATCCGGT
SE-1632-F	ATGACACTAGTCGCACAGGA
SE-1632-R	CGGTATGTGAACCCTTACCT
16S-27F-B	AGRGTTYGATYMTGGCTCAG
16S-1492R	TTAAATGTCTAATGAGGTCCAA
23S-6F	GCGATTTTCYGAAYGGGGRAACCC
23S-10R	TTCGCCTTTCCCTCACGGTACT

Hedeflenen bölgeler için gerekli primerler ve belirtilen karışım miktarları uygulanarak PCR reaksiyonları tamamlandı (Tablo 4). Hazırlanan PCR reaksiyonları, uygun “Thermal Cycler” (Isıl Döngü) protokolünde çoğaltma aşamaları tamamlandı (Tablo 5).

Tablo 4: PCR uygulaması için bileşenler ve miktarları

Bileşenler	Her bir reaksiyon için miktar (µL)
10X Buffer	2.5
Distile su	16.875
dNTP	2
F primer	0.5
R primer	0.5
DNA	2.5
Taq Polimeraz	0.125
Toplam miktar	25 µL

Tablo 5: PCR uygulaması için gerekli thermal cycler protokolü

Program	Sıcaklık	Süre	Döngü
Preinkübasyon	98°C	30 saniye	1
	98°C	10 saniye	
Amplifikasyon	55°C	30 saniye	25
	72°C	1.30 dakika	
Soğutma	4°C	∞	1

3.3.3. RFLP

Çoğaltılan hedef 16S ve 23S gen bölgelerine ait PCR ürünleri RFLP uygulaması için gerekli bileşenler (Tablo 6) ile uygun protokol yöntemi (TaKaRa Taq Hot Start Version ve TaKaRa Digestion) uygulanarak kesim işlemi gerçekleştirildi (Tablo 7).

Tablo 6: RFLP uygulaması için bileşenler ve miktarları

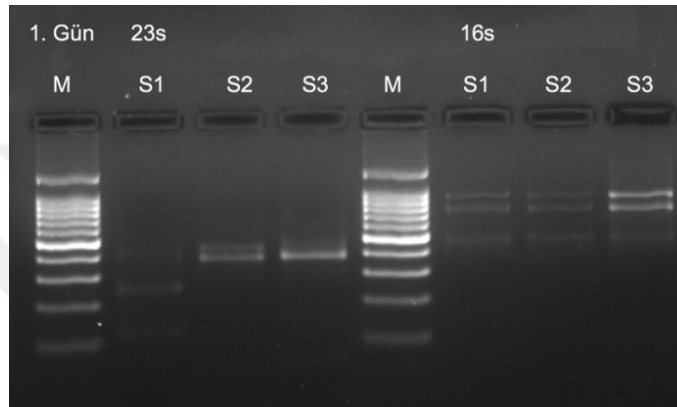
Bileşenler	Her bir reaksiyon için miktar (µL)
Distile su	10
10X Digestion Buffer	1.5
Enzim	1
PCR Ürünü	2.5
Toplam miktar	15 µL

Tablo 7: RFLP uygulaması için gerekli thermal cycler protokolü

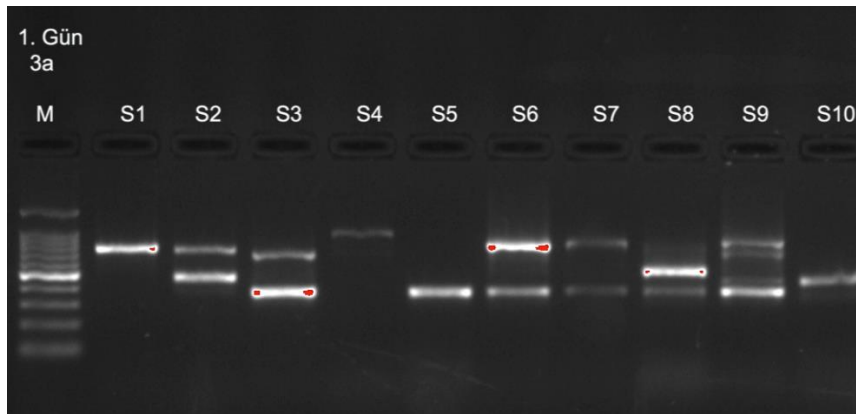
Program	Sıcaklık	Süre	Siklus
İnkübasyon	37°C	8 saat	1
	95°C	1 dakika	
Soğutma	4°C	∞	

3.3.4. Jel Hazırlama ve Görüntüleme

Tiplendirmede kullanılacak kesim reaksiyonları elektroforezde yürütmek için agaroz jel hazırlandı. Kimyasallardan 10X TBE stok ürünü, 9:1 oranında sulandırılarak 1X TBE konsantrasyonuna getirildi. Analiz için uygun olan % 2'lik agaroz jel hazırlandı. Agaroz jele yüklenen bantların tamamen birbirinden ayrımını sağlamak için elektroforez işlemi kontrollü olarak 70 dk sürdürüldü. Örneklerin tamamı jel yüklenilene kadar elektroforez aşaması tekrar edildi.



Şekil 11: 1. Gün S1, S2, S3 örneklerinin HINDIII enzimi ile 16S ve 23S gen bölgelerinin kesimi



Şekil 12: *S.epidermidis*'e ait 10 bireyin, 3a (SE-1) reaksiyonunun VNTR görüntüsü

Çalışmamızda 10 bireyden 10 gün boyunca alınan toplam 100 reaksiyonun 16S rRNA, 23S rRNA, *S.epidermidis*'e ait VNTR sonuçları değerlendirildi. 16S rRNA için 25, 23S rRNA için 12, VNTR için 35 ve tüm parametreler için 72 bant değerlendimeye alındı. Kişisel el floraları ile birlikte ilk üç kişiye ait kişisel bilgisayarlarının klavyelerinden alınan örneklerle karşılaştırma yapıldı.

3.3.5. Jel Analizi

Yürütmesi tamamlanan *S. epidermidis*'e ait VNTR ve kesim reaksiyonlarını görüntülemesi ve bantların yerinin belirlenmesi için 'IMAGE LAB' programı kullanıldı. Agaroz jel görüntüleri, 'BioRad Jel Görüntüleme Sistemi' ile sağlandı. Tüm reaksiyonlar tamamlanana kadar devam edildi, görüntüler 'IMAGE LAB' programında açmak üzere dosyalar '.scn.' uzantılı kaydedildi. PCR ve kesim sonucu oluşan bantlar 'IMAGE LAB' programında elektroforez görüntülerinin her biri 100bp'lik 'ladder' ile karşılaştırılarak, moleküler büyüklükleri belirlendi.

16S rRNA, 23S rRNA ve *S. epidermidis*'e ait VNTR örnekleri 'IMAGE LAB' programında analiz edilerek, 100 örneğin, üç farklı parametre için sonuçları değerlendirildi (Tablo 8).

Tablo 8: Bir numaralı kişinin, VNTR jel analizi

Bp	1_1	1_2	1_3	1_4	1_5	1_6	1_7	1_8	1_9	1_10
220	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
240	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
260	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
280	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
320	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0
340	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
360	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
380	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
400	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
420	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
440	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
460	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
480	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
520	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
540	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1
560	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
580	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1
600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
620	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
640	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
660	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
680	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
700	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
720	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
740	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
760	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
780	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
800	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
820	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
840	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
860	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
880	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
900	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1
920	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
940	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
960	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
980	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1000	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1

3.3.6. Filogenetik analiz

Moleküler büyüklükleri tespit edilen bantlar, 16S rRNA, 23S rRNA, VNTR ve bu parametrelerin tümünün aynı dosyada toplandığı dört farklı tablo oluşturuldu. Örneklerde, belirtilen birinci rakam kişiyi, ikinci rakam ise kişinin örneğinin alınan gününü belirtmektedir (Örnek 2. kişinin, 1. gün örneği; 2.1).

Filogenetik analizde değerlendirilecek olan veri, bantların bulunduğu bölgede 0/1 skorlama uygulanarak oluşturuldu. Oluşturulan veri 'FreeTree', 'MEGA7' ve 'PRIMER V7' filogenetik analiz programlarında değerlendirildi. Filogenetik diyagramlar uzaklık yöntemi prensibine göre "Neighbour Joining", "Bootstrapping" ve "Repetition Count" değeri 1000 olarak belirlendi.



4. BULGULAR

4.1. Kişilerin El Mikrobiyotasına Ait 16S Bölgesinin Filogenetik Analizi

Çalışmamızda on kişiye ait el mikrobiyota örneklerinin 16S reaksiyonları değerlendirildiğinde; 14 küme ayrımı sağlanmıştır.

Bir numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 16S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, 5 farklı günün aynı kökte yer aldığı gözlenmiştir (2.,4.,6., 9. ve 10. günler). Bu günler arasından 4'ünün (4., 6., 9. ve 10. günler) bir kökte kümelendiği gözlenmiştir. Bununla birlikte 2. ve 5. gün örnekleri de aynı kökte yer alarak kendi içinde yakın kümelenme göstermiştir. Bunların dışında kalan üç gün (1., 7. ve 8 günler) filogenetik dendogramda dağınık yerleşim göstermiştir.

İki numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 16S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, 5 farklı gün (1., 3., 4., 9. ve 10. günler) örneği aynı kökte yer alırken kişinin 2. ve 6. gün örnekleri de kendi içinde farklı kökte kümelendirilmiştir. Bunların dışında 5., 7. ve 8. güne ait örnekler filogenetik dendogramda dağınık yerleşim göstermiştir.

Üç numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 16S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, 1. ve 3. gün, 2. ve 4. gün örnekleri ile 9. ve 10. gün örnekleri kendi aralarında aynı kökte kümelenme göstermiştir. Bunların dışında 8. gün örneği hariç 5., 6. ve 7. Gün örnekleri kendi aralarında farklı bir kökte kümelendirilmiştir.

Dört numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 16S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, 8 farklı gün (1., 2., 3., 4., 5., 6., 9., ve 10. günler) örneği aynı kökte kümelendirirken, 7. ve 8. gün örneklerinin de birebir aynı özellik göstererek farklı kökte kümelenme göstermiştir.

Beş numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 16S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, 4., 9. ve 8. gün örnekleri ile 3. ve 7. gün örnekleri kendi aralarında birebir özellik gösterirken aynı kökte kümelendirilmiştir. Ayrıca 2., 5. ve 6. gün örnekleri farklı kökte kümelendirirken, 1. gün örneği filogenetik dendogramda farklı bir kökte yerleşim göstermiştir.

Altı numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 16S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, 3., 4. ve 6. gün örnekleri, 8. ve 9. gün örnekleri ile 7. ve 10. gün

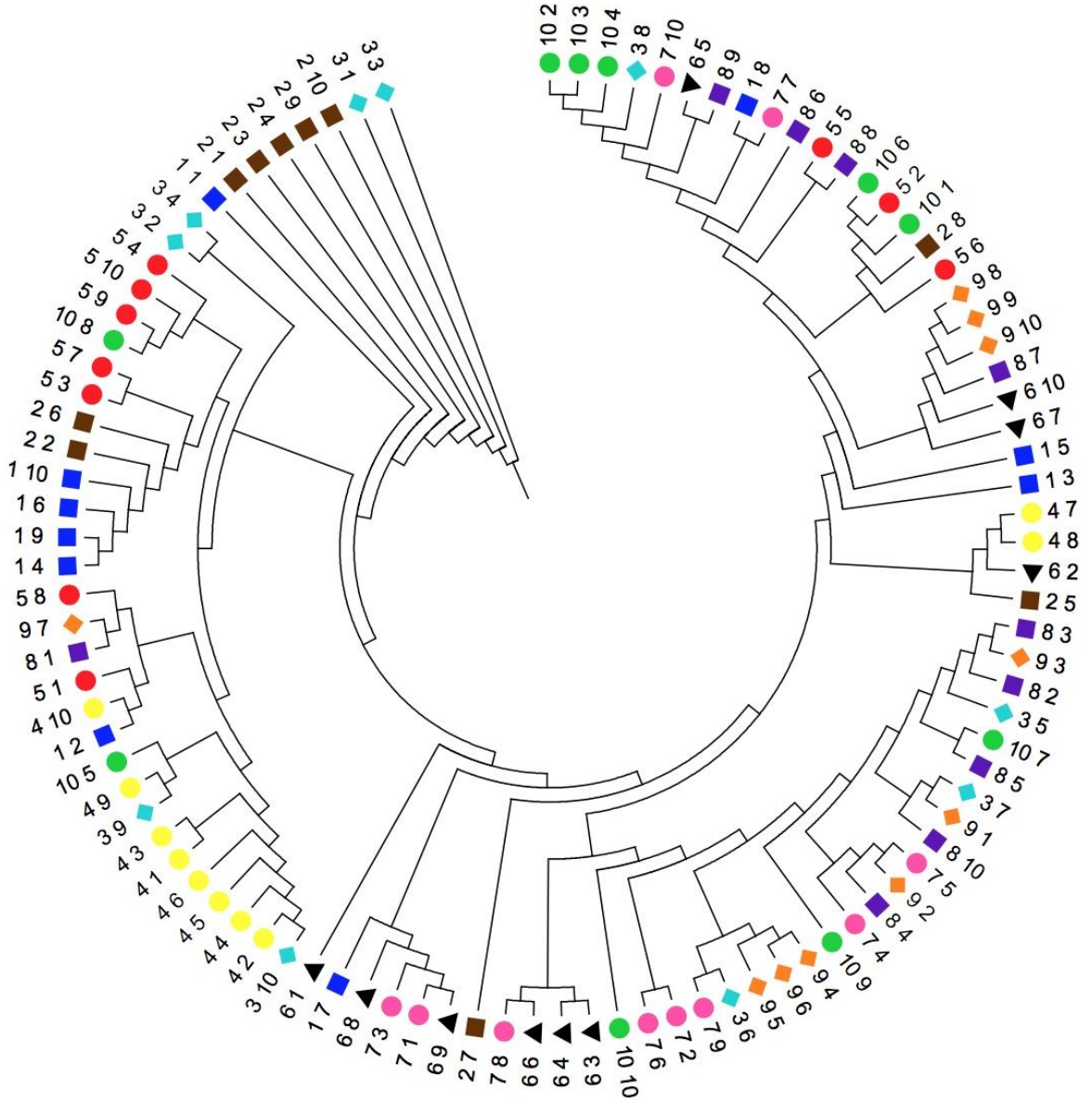
örnekleri kendi aralarında farklı köklerden kümelenirken, 1., 2. ve 5. gün örneklerin filogenetik dendogramda dağınık yerleşim göstermiştir.

Yedi numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 16S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, 1. ve 3. gün örnekleri, 2. ve 6. gün örnekleri, 4. ve 5. gün ve 7. ve 10. gün örnekleri kendi içinde farklı köklerden kümelenme oluştururken 9. gün ve 8. gün örneği filogenetik dendogramda farklı kümelerde yerleşim göstermiştir.

Sekiz numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 16S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, beş farklı gün (2., 3., 4., 5. ve 10 gün) örneği aynı kökte kümelenme gösterirken, 6., 8. ve 9. gün örnekler de farklı kökte kümelenme göstermiştir. Bununla birlikte kişinin 1. ve 7. gün örneği filogenetik dendogramda bağımsız kökte yerleşim göstermiştir.

Dokuz numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 16S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, 1., 2., ve 3. günler, 4., 5. ve 6. günler ile 8., 9. ve 10. günler kendi aralarında aynı kökte kümelenme göstermiştir. Bununla birlikte kişinin 7. gün örneği filogenetik dendogramda bağımsız kökte yerleşim göstermiştir.

On numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 16S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, 2., 3. ve 4. gün örnekleri ile 1. ve 6. gün örnekleri kendi aralarında aynı kökte kümelenme gösterirken, 5., 7., 8., 9. ve 10. gün örnekleri filogenetik dendogramda dağınık yerleşim göstermiştir (Şekil 13).*



- *
 ■ 1 numaralı kişi ◆ 3 numaralı kişi ● 5 numaralı kişi ● 7 numaralı kişi ◆ 9 numaralı kişi
 ■ 2 numaralı kişi ● 4 numaralı kişi ▼ 6 numaralı kişi ■ 8 numaralı kişi ● 10 numaralı kişi

Şekil 13: Kişilerin el mikrobiyotasına ait 16S bölgesinin filogenetik dendrogramı

4.2. Kişilerin El Mikrobiyotasına Ait 23S Bölgesinin Filogenetik Analizi

Çalışmamızda on kişiye ait el mikrobiyota örneklerinin 23S reaksiyonları değerlendirildiğinde; 12 küme ayrımı sağlanmıştır.

Bir numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 23S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, kişiye ait 5 farklı günün (1., 4., 6., 9. ve 10. günler) aynı kökten kümelendiği gözlenmiştir. Ayrıca kişinin üç farklı gün (3., 5. ve 7. gün) örneği iki farklı kökte kümeleneştir. Bununla birlikte 2., ve 8. gün örnekleri filogenetik dendogramda diğer günlere göre bağımsız köklerde yerleşim göstermiştir.

İki numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 23S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, kişiye ait 7 farklı günün (1., 2., 3., 4., 6., 9. ve 10. günler) aynı kökte kümelendiği gözlenmiştir. Bununla birlikte kişinin 5. ve 7. günleri farklı bir kökte küme oluştururken 8. Gün örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Üç numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 23S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, kişiye ait 6 farklı gün (1., 2., 3., 4., 9. ve 10. günler) aynı kökte kümeleneirken, 3 farklı gün (5., 7. ve 8. günler) örneği farklı kökte kümeleneştir. Bununla birlikte kişinin 6. gün örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Dört numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 23S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, 5 farklı gün örneği (1., 2., 4., 5. ve 6. günler) aynı kökte küme oluştururken, diğer 5 farklı gün örneği (3., 7., 8., 9. ve 10. günler) filogenetik dendogramda bağımsız köklerde yerleşim göstermiştir.

Beş numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 23S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, kişiye ait 4 farklı günün (4., 5., 9. ve 10. günler) örneği aynı kökte kümeleneirken, 2 farklı gün (3. ve 7. günler) örneğinin farklı kökte kümelendiği gözlenmiştir. Bununla birlikte kişinin 4 farklı gün örneği (1., 2., 6. ve 8. günler) filogenetik dendogramda bağımsız köklerde yerleşim göstermiştir.

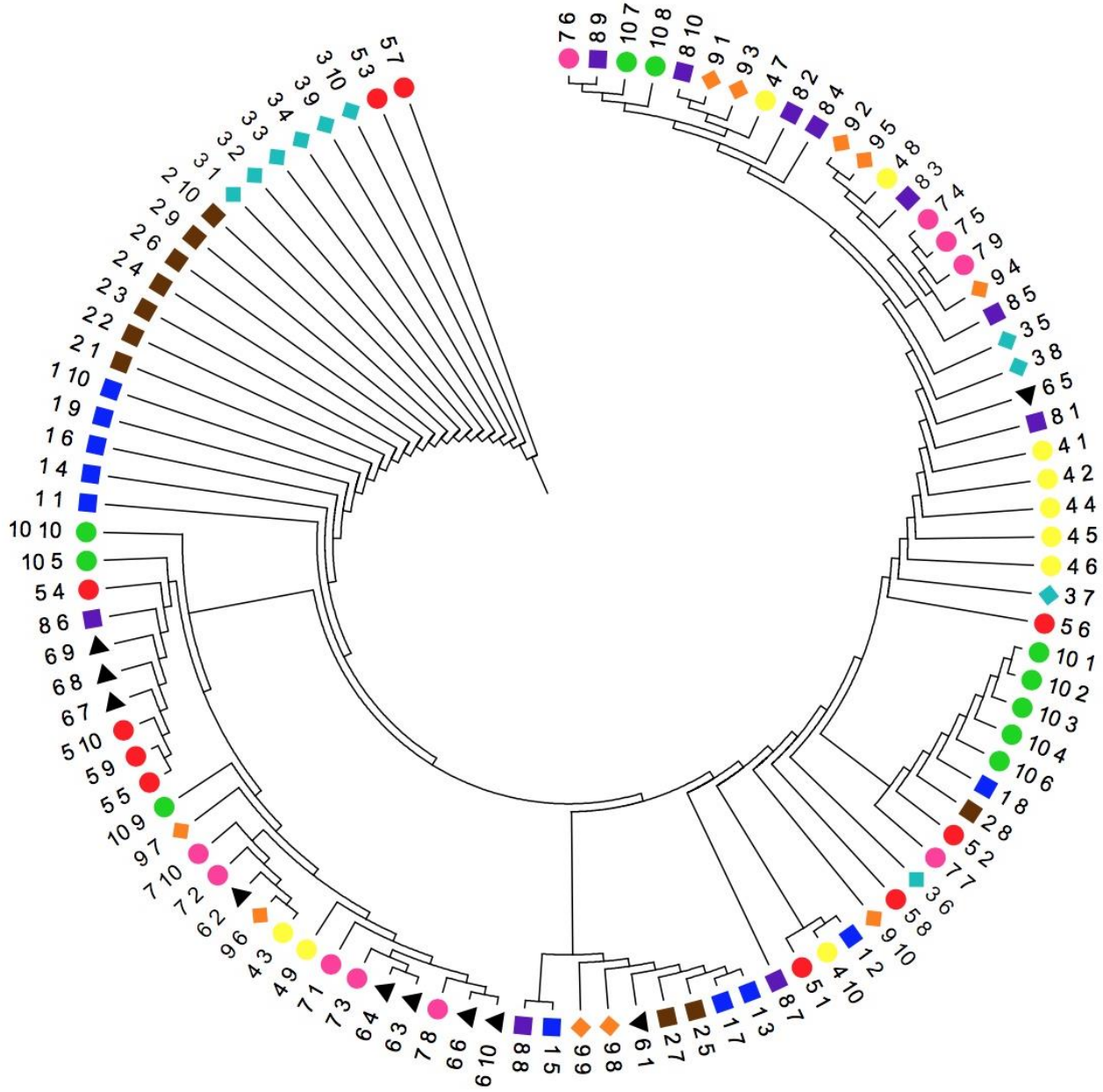
Altı numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 23S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, kişiye ait 3 farklı gün (7., 8. ve 9. günler) örneği aynı kökte kümeleneirken, 4 farklı gün (3., 4., 6. ve 10. günler) kendi aralarında farklı köklerde yer almıştır. Bununla birlikte kişinin 3 farklı gün örneği (1., 2. ve 5. günler) filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Yedi numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 23S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, 2. ve 10. gün örnekleri ile 1., 3. ve 8. gün örnekleri kendi aralarında aynı kökte kümelenme göstermiştir. Bununla birlikte kişinin 3 farklı gün (4., 5. ve 9. günler) örneği aynı kökte bulunurken, 6. ve 7. gün örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Sekiz numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 23S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, kişiye ait 2 farklı gün (3. ve 5. günler) örneği aynı kökte kümelenirken, 4 farklı gün (3., 4., 6. ve 10. günler) örneği de farklı kökte kümelenmiştir. Bununla birlikte kişinin 4 farklı gün örneği (1., 6., 7. ve 8. günler) filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Dokuz numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 23S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, kişiye ait 2., 5. ve 4. gün örnekleri aynı kökte yer aldığı gözlenirken, 1. ve 3. gün örnekleri farklı kökte kümelenmiştir. Ayrıca 8. ve 9. gün örnekleri aynı kökte kümelenme oluştururken, 6. ve 7. gün örnekleri filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

On numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait 23S bölgesi filogenetik olarak değerlendirildiğinde, kişiye ait 5 farklı gün örneğinin (1., 2., 3., 4. ve 6. gün) aynı kökte kümelenme oluşturduğu gözlenmiştir. Ayrıca 7. ve 8. gün örnekleri aynı kökte küme oluştururken 5., 10. ve 9. gün örnekleri filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir (Şekil 14). *



- *

■ 1 numaralı kişi	◆ 3 numaralı kişi	● 5 numaralı kişi	● 7 numaralı kişi	◆ 9 numaralı kişi
■ 2 numaralı kişi	◆ 4 numaralı kişi	▼ 6 numaralı kişi	■ 8 numaralı kişi	● 10 numaralı kişi

Şekil 14: Kişilerin el mikrobiyotasına ait 23S bölgesinin filogenetik dendrogramı

4.3. Kişilerin El Mikrobiyotasına Ait *S. epidermidis*'in VNTR Reaksiyonlarının Filogenetik Analizi

Çalışmamızda on kişiye ait el mikrobiyota örneklerinin *S. epidermidis* VNTR reaksiyonları değerlendirildiğinde; 14 küme ayrımı sağlanmıştır.

Bir numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları değerlendirildiğinde, kişiye ait 3., 4., 5. ve 6. gün örneklerinin kökte yer aldığı gözlenirken, 8., 9. ve 10. gün örnekleri de farklı kökte kümelenme göstermiştir. Bununla birlikte kişinin 3 farklı gün (1., 2. ve 7. günler) örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

İki numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları değerlendirildiğinde, kişiye ait 2. ve 4. gün örnekleri ile 3. ve 10. Gün örnekleri farklı köklerde kümelenme oluştururken 5. ve 6. gün örneği ile 7. ve 8. gün örnekleri de farklı köklerde kümelenme oluşturmuştur. Bununla birlikte iki gün (1. ve 9. günler) filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Üç numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları değerlendirildiğinde, kişiye ait 4 farklı günün (2., 3., 4. ve 5. günler) aynı kümede yer aldığı gözlenmiştir. Ayrıca 1. ve 9. günler ile 6. ve 7. günler farklı köklerde kümelenme göstermiştir. Bununla birlikte 8. ve 10. günler filogenetik dendogramda farklı köklerde yerleşim göstermiştir.

Dört numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları değerlendirildiğinde, kişiye ait 4 farklı gün (2., 3., 9. ve 10. günler) aynı kökte kümelenme oluşturduğu gözlenmiştir. Ayrıca 4. ve 7. günler ile 5. ve 6. günlerin örnekleri de farklı köklerde kümelenme göstermiştir. Bununla birlikte iki gün (1. ve 8. günler) örnekleri filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Beş numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları değerlendirildiğinde, kişiye ait 1. ve 2. gün örnekleri ile 3. ve 10. gün örnekleri farklı köklerde kümelenme oluştururken 5. ve 9. gün örneği ile 7. Ve 8. gün örnekleri de farklı köklerde kümelenme oluşturmuştur. Bununla birlikte iki gün (4. ve 6. günler) filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Altı numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları değerlendirildiğinde, kişiye ait 3., 7., 8. ve 9. gün örneklerinin aynı kökte kümelendiği

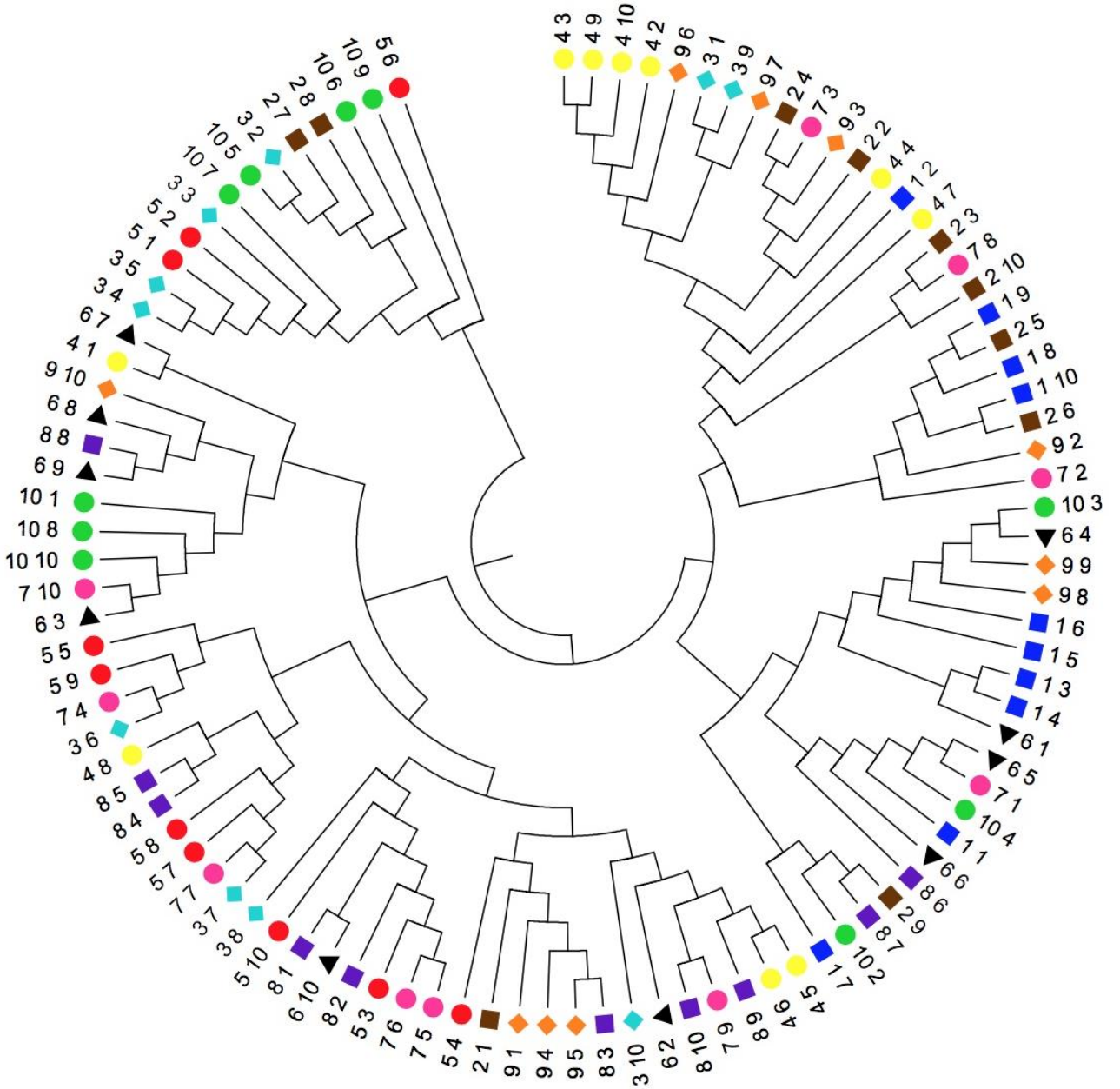
gözlenirken, 1. ve 4. gün örneği ile 5. ve 6. günlerin kendi arasında farklı köklerde kümelenme oluşturmuştur. Bununla birlikte 2. ve 10. gün örnekleri de filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Yedi numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları değerlendirildiğinde, kişiye ait 5. ve 6. gün örnekleri ile 4. ve 7. gün örnekleri kendi aralarında aynı kökten kümelenme göstermiştir. Bununla birlikte 1., 2., 3., 8., 9. ve 10 gün örnekleri filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Sekiz numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları değerlendirildiğinde, kişiye ait 1.ve 2. Gün örnekleri, 4. ve 5. gün örnekleri ile 9. ve 10. gün örnekleri kendi aralarında aynı kökte kümelenme göstermiştir. Bununla birlikte 3., 6., 7. ve 8. gün örnekleri de filogenetik dendogramda dağınık yerleşim göstermiştir.

Dokuzuncu kişinin el mikrobiyotasına ait *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları değerlendirildiğinde, kişiye ait 1., 4. ve 5. gün örnekleri ile 8.ve 9. gün örnekleri kendi içinde aynı kökte kümelenmiştir. Bununla birlikte 5 farklı gün (2., 3., 6., 7. ve 10. gün) örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim kümelenme oluşturmuştur.

On numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları değerlendirildiğinde, kişiye ait 1., 8. ve 10. günler ile 5., 6. ve 9 gün örnekleri kendi aralarında aynı kökte kümelenme göstermiştir. Bununla birlikte 4 farklı gün (2., 3., 4. ve 7. gün) örneği de filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir (Şekil 15).*



- *
 ■ 1 numaralı kişi ◆ 3 numaralı kişi ● 5 numaralı kişi ● 7 numaralı kişi ◆ 9 numaralı kişi
 ■ 2 numaralı kişi ● 4 numaralı kişi ▼ 6 numaralı kişi ■ 8 numaralı kişi ● 10 numaralı kişi

Şekil 15: Kişilerin el mikrobiyotasına ait *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonlarının filogenetik dendogramı

4.4. Kişilerin El Mikrobiyotasına Ait 16S, 23S ve *S. epidermidis*'in VNTR Reaksiyonlarının Filogenetik Analizi

Çalışmamızda on kişiye ait el mikrobiyota örneklerinin 16S, 23S ve *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları birlikte değerlendirildiğinde; 12 küme ayrımı sağlanmıştır.

Bir numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait çalışılan 16S, 23S ve *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları birlikte değerlendirildiğinde, kişiye ait 5 farklı günün (1., 3., 4., 5. ve 7. gün) örnekleri aynı kökte kümelenirken, 2. ve 6. günler ile 9. ve 10. günlerinin de kendi aralarında farklı köklerde kümelendiği görülmüştür. Bununla birlikte kişinin iki farklı gün (2. ve 8. günler) örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

İki numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait çalışılan 16S, 23S ve *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları birlikte değerlendirildiğinde, kişiye ait 6 farklı günün (2., 3., 4., 5., 6. ve 7. gün) örnekleri aynı kökte kümelenirken, 1., 9. ve 10. günleri de farklı kökte kümelene göstermiştir. Bununla birlikte kişinin sadece 8. gün örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Üç numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait çalışılan 16S, 23S ve *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları birlikte değerlendirildiğinde, kişinin 1., 2., ve 3. gün örnekleri aynı kökte kümelenirken, 4., 6., 9. ve 10 gün örnekleri ile 7. ve 8. gün örnekleri de kendi aralarında aynı kökte kümelenemiştir. Bununla birlikte kişinin sadece 5. gün örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Dört numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait çalışılan 16S, 23S ve *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları birlikte değerlendirildiğinde, kişiye ait 9 farklı günün (3., 7., 8. ve 10. gün) örnekleri aynı kökte kümelene göstermiştir. Bununla birlikte kişinin sadece 7. gün örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Beş numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait çalışılan 16S, 23S ve *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları birlikte değerlendirildiğinde, kişiye ait 7 farklı günün (4., 5., 6., 7., 8., 9. ve 10. gün) örnekleri aynı kökte kümelene gösterirken, kişinin 1. ve 3. gün örneklerinin de farklı kökte kümelendiği görülmüştür. Bununla birlikte kişinin sadece 2. gün örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Altı numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait çalışılan 16S, 23S ve *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları birlikte değerlendirildiğinde, kişinin 7 farklı (3., 4., 6., 7., 8., 9. ve 10.

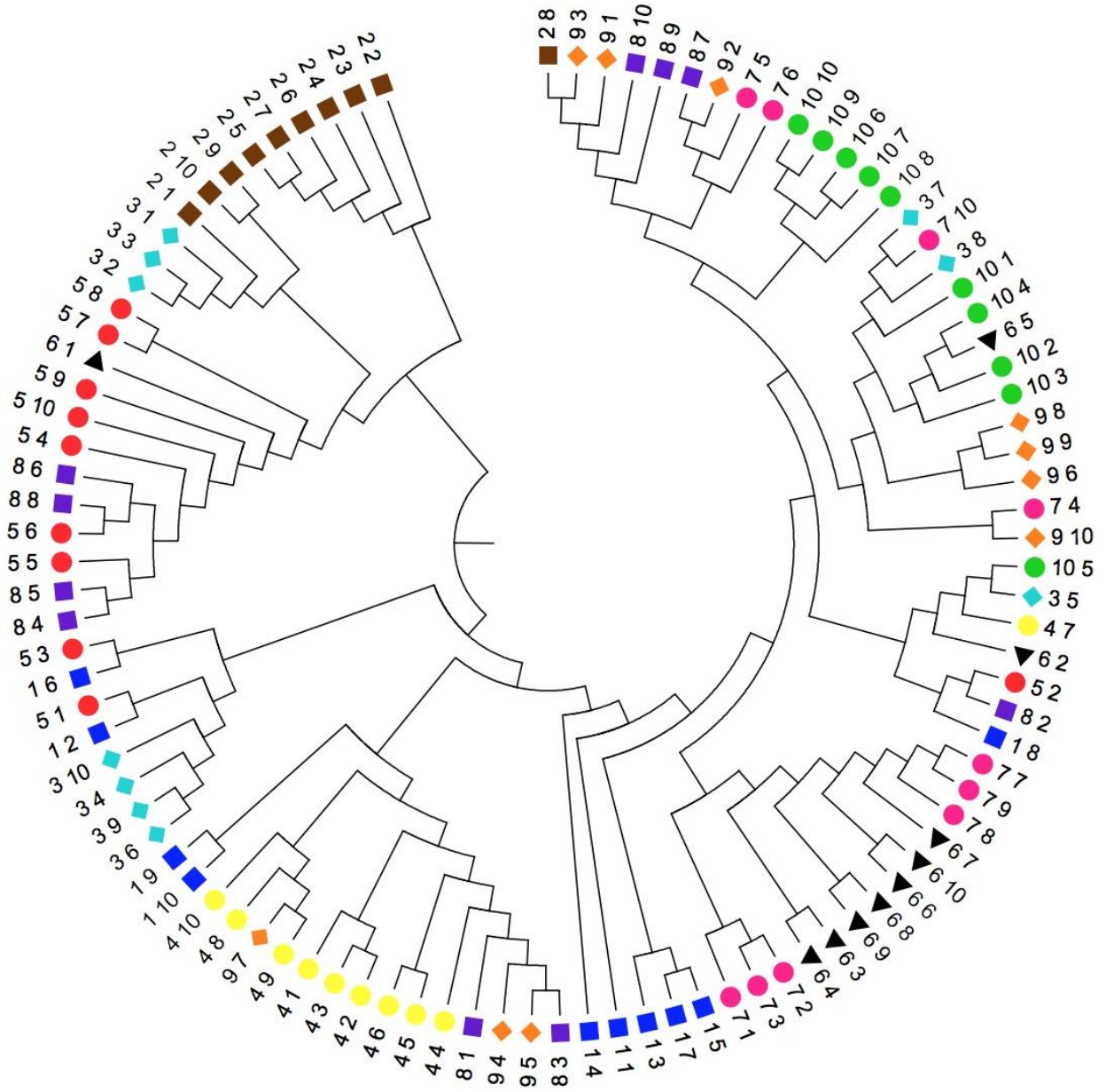
gün) örneği aynı kökte kümelenme oluşturmuştur. Bununla birlikte kişinin üç farklı gün (1., 2. ve 5. günler) örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Yedi numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait çalışılan 16S, 23S ve *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları birlikte değerlendirildiğinde, kişinin 1., 2. ve 3. gün örneği, 7., 8. ve 9. gün örneği ile 5. ve 6. gün örnekleri kendi aralarında farklı köklerde kümelenme göstermiştir. Bununla birlikte kişinin iki farklı gün (4. ve 10. günler) örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Sekiz numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait çalışılan 16S, 23S ve *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları birlikte değerlendirildiğinde, kişinin dört farklı gün (4., 5., 6. Ve 8. gün) örneği aynı kökte kümelenirken, 7., 9. ve 10. gün ile 1. ve 3. gün örneklerinin de farklı kökte kümelendiği gözlenmiştir. Bununla birlikte kişinin sadece 2. gün örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Dokuz numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait çalışılan 16S, 23S ve *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları birlikte değerlendirildiğinde, kişinin dört farklı gün (6., 8., 9. Ve 10. gün) örneği aynı kökte kümelenme oluştururken üç farklı gün (1., 2. ve 3. gün) örneği farklı kökte kümelenme göstermiştir. Bununla birlikte 4. ve 5. gün örnekleri kendi arasında aynı kökte kümelenirken 7. gün örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

On numaralı kişinin el mikrobiyotasına ait çalışılan 16S, 23S ve *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları birlikte değerlendirildiğinde, kişinin 5 farklı gün (6., 7., 8., 9. ve 10. gün) örneği aynı kökte kümelenme oluştururken, dört farklı gün (1., 2., 3. ve 4. gün) örneği de farklı kökte kümelenme göstermiştir. Bununla birlikte kişinin sadece 5. gün örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir (Şekil 16). *



- *
 ■ 1 numaralı kişi ◆ 3 numaralı kişi ● 5 numaralı kişi ● 7 numaralı kişi ◆ 9 numaralı kişi
 ■ 2 numaralı kişi ● 4 numaralı kişi ▼ 6 numaralı kişi ■ 8 numaralı kişi ● 10 numaralı kişi

Şekil 16: Kişilerin el mikrobiyotasına ait 16S, 23S ve *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonlarının filogenetik dendrogramı

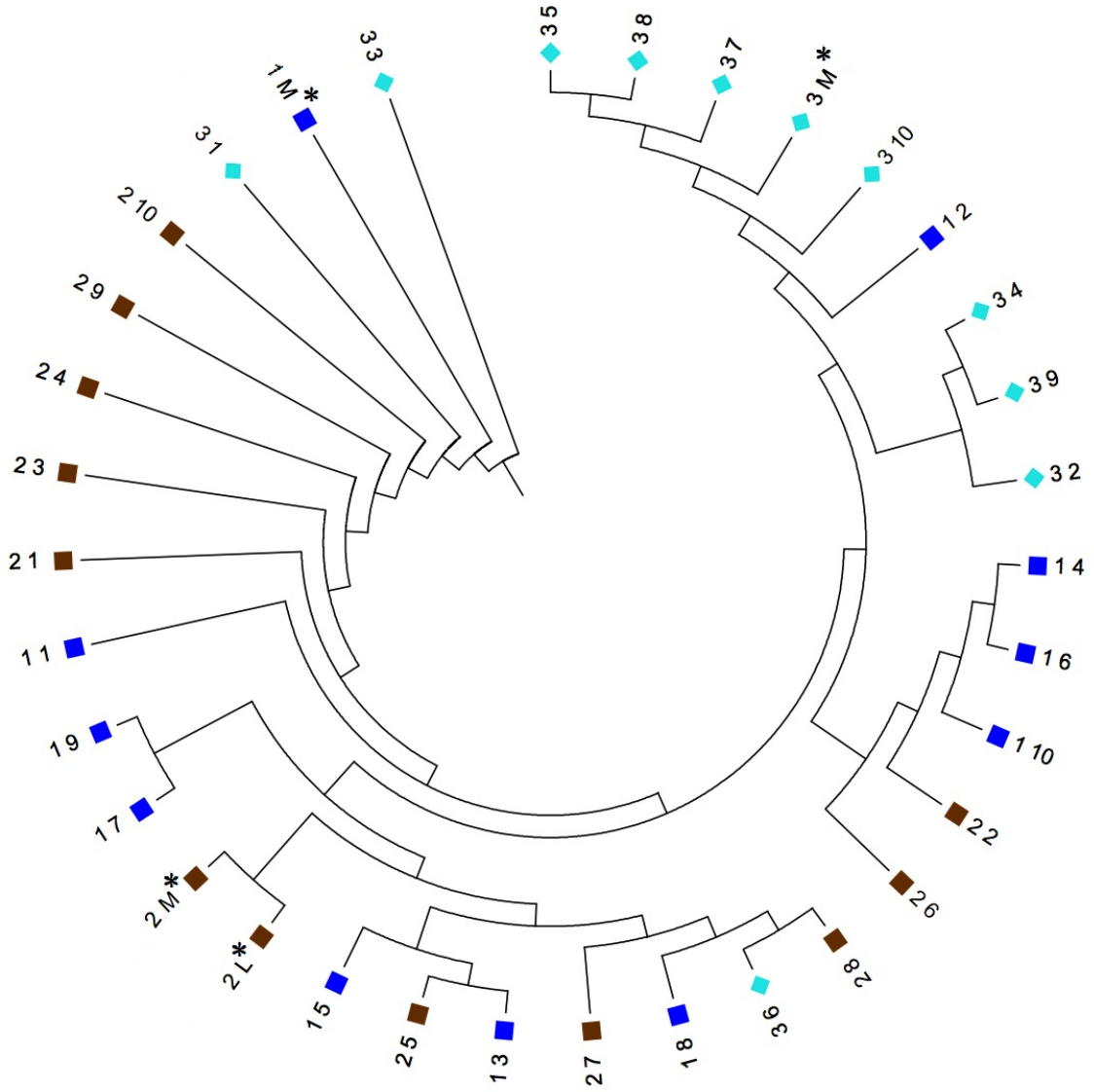
4.5. Kişisel Bilgisayarların Klavye Örnekleri ile El Mikrobiyota Örneklerinin 16S Bölgesi için Filogenetik Analizi

Çalışmamızda üç kişiye ait kişisel bilgisayarları ile el mikrobiyota örneklerinin 16S bölgeleri değerlendirildiğinde, 8 küme ayrımı sağlanmıştır.

Bir numaralı kişinin el mikrobiyotasından ve kişisel bilgisayarından alınan mikrobiyota örneğinin 16S reaksiyonları değerlendirildiğinde, kişinin 3., 5. ve 8. gün örneği aynı kökte kümelenme gösterirken, 4., 6. ve 10 gün örnekleri de kendi aralarında farklı kökte kümelenme göstermiştir. Bununla birlikte kişinin 7. ve 9. gün örneği kendi içinde kümelenirken, kişinin 1. gün el mikrobiyota örneği ile kişisel bilgisayarından elde edilen mikrobiyota örneği (1 M* = 1 Numaralı kişinin masaüstü bilgisayarından alınan klavye örneği) filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

İki numaralı kişinin el mikrobiyotasından ve kişisel bilgisayarlarından (masaüstü ve laptop bilgisayarı) alınan örneklerin 16S reaksiyonları değerlendirildiğinde, kişinin 1., 3., 4., 9. ve 10. gün örnekleri kendi içinde farklı kökte kümelenirken, 5., 7. ve 8. gün örnekleri ile kişinin kişisel bilgisayarların (2 M* = 2 Numaralı kişinin masaüstü bilgisayarından alınan klavye örneği, 2 L* = 2 Numaralı kişinin laptop bilgisayarından alınan klavye örneği) örnekleri de kendi aralarında farklı kökte kümelenme göstermiştir. Ayrıca kişinin bilgisayar örnekleri birebir karakter göstererek filogenetik dendogramda aynı kökte yerleşim göstermiştir. Bununla birlikte kişinin iki farklı gün (2. ve 6. gün) örneği farklı kökte kümelenme göstermiştir.

Üç numaralı kişinin el mikrobiyotasından ve kişisel bilgisayarından alınan örneklerin 16S reaksiyonları birlikte değerlendirildiğinde, kişinin 5., 7., 8., 10. gün örnekleri ile kişisel bilgisayarından (3 M* = 3 Numaralı kişinin masaüstü bilgisayarından alınan klavye örneği) elde edilen örnek gün örnekleri aynı kökte kümelenme göstermiştir. Ayrıca kişinin 2., 4. ve 9. gün örnekleri kendi içinde farklı kökte kümelenme oluşturmuştur. Bununla birlikte 1. ve 3. gün örnekleri farklı kümelenme gösterirken, 6. gün örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir (Şekil 17).*



* 1 numaralı kişi ■ 2 numaralı kişi ■ 3 numaralı kişi ◆

Şekil 17: Kişisel bilgisayarlardan alınan klavye örnekleri ile el mikrobiyota örneklerinin 16S bölgesi için filogenetik dendrogramı

(M*=Masaüstü bilgisayarın klavye örneği, L* = Laptop bilgisayarın klavye örneği)

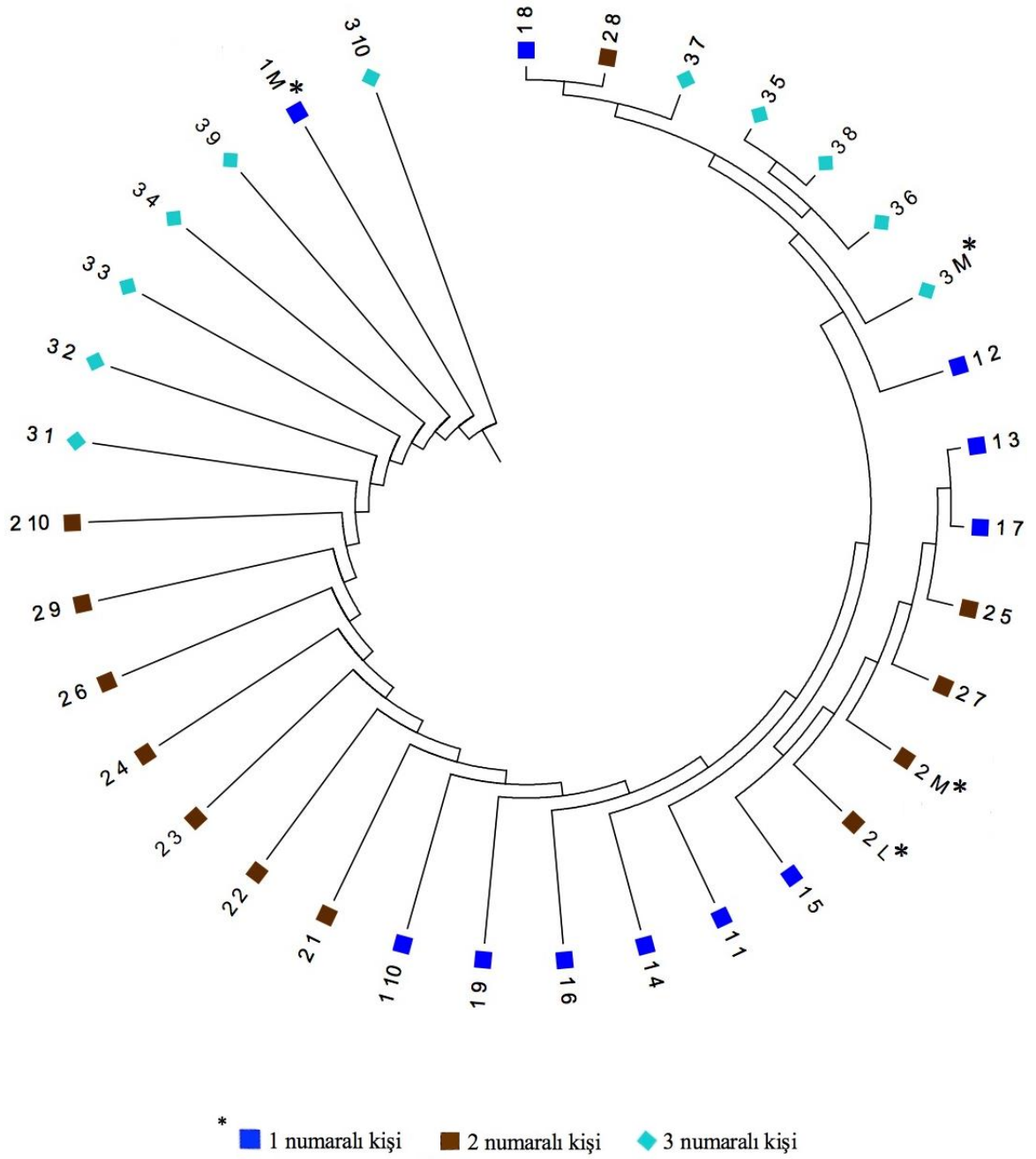
4.6. Kişisel Bilgisayarların Klavye Örnekleri ile El Mikrobiyota Örneklerinin 23S Bölgesi için Filogenetik Analizi

Çalışmamızda üç kişiye ait kişisel bilgisayarları ile el mikrobiyota örneklerinin 16S bölgeleri değerlendirildiğinde, 5 küme ayrımı sağlanmıştır.

Bir numaralı kişinin el mikrobiyotasından ve kişisel bilgisayarından alınan mikrobiyota örneğinin 23S reaksiyonları değerlendirildiğinde, kişinin 6 farklı gün (1., 4., 5., 6., 9. ve 10. gün) örnekleri ile 3. ve 7. gün örnekleri kendi aralarında kümelenme göstermiştir. Bununla birlikte kişinin 2. ve 8. gün örnekleri kendi içinde farklı kökte kümelenirken, 1 M* numaralı örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

İki numaralı kişinin el mikrobiyotasından ve kişisel bilgisayarından alınan mikrobiyota örneğinin 23S reaksiyonları değerlendirildiğinde, kişiye ait 7 farklı günün (1., 2., 3., 4., 6., 9. ve 10. günler) aynı kökte küme oluşturduğu gözlenmiştir. Ayrıca kişinin 5. ve 7. günleri ile birlikte 2 M* ve 2 L* örnekleri aynı kökte kümelenme oluşturmuştur. Bununla birlikte sadece 8. gün örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Üç numaralı kişinin el mikrobiyotasından ve kişisel bilgisayarından alınan mikrobiyota örneğinin 23S reaksiyonları değerlendirildiğinde, kişiye ait 6 farklı günün (1., 2., 3., 4., 9. ve 10. günler) aynı kökte kümelendiği gözlenmiştir. Bununla birlikte kişinin 5., 6., 7. ve 8. gün örnekleri ile 3 M* numaralı örnek aynı kökte kümelenme göstermiştir (Şekil 18). *



Şekil 18: Kişisel bilgisayarlardan alınan klavye örnekleri ile el mikrobiyota örneklerinin 23S bölgesi için filogenetik dendrogramı

(M*=Masaüstü bilgisayarın klavye örneği, L* = Laptop bilgisayarın klavye örneği)

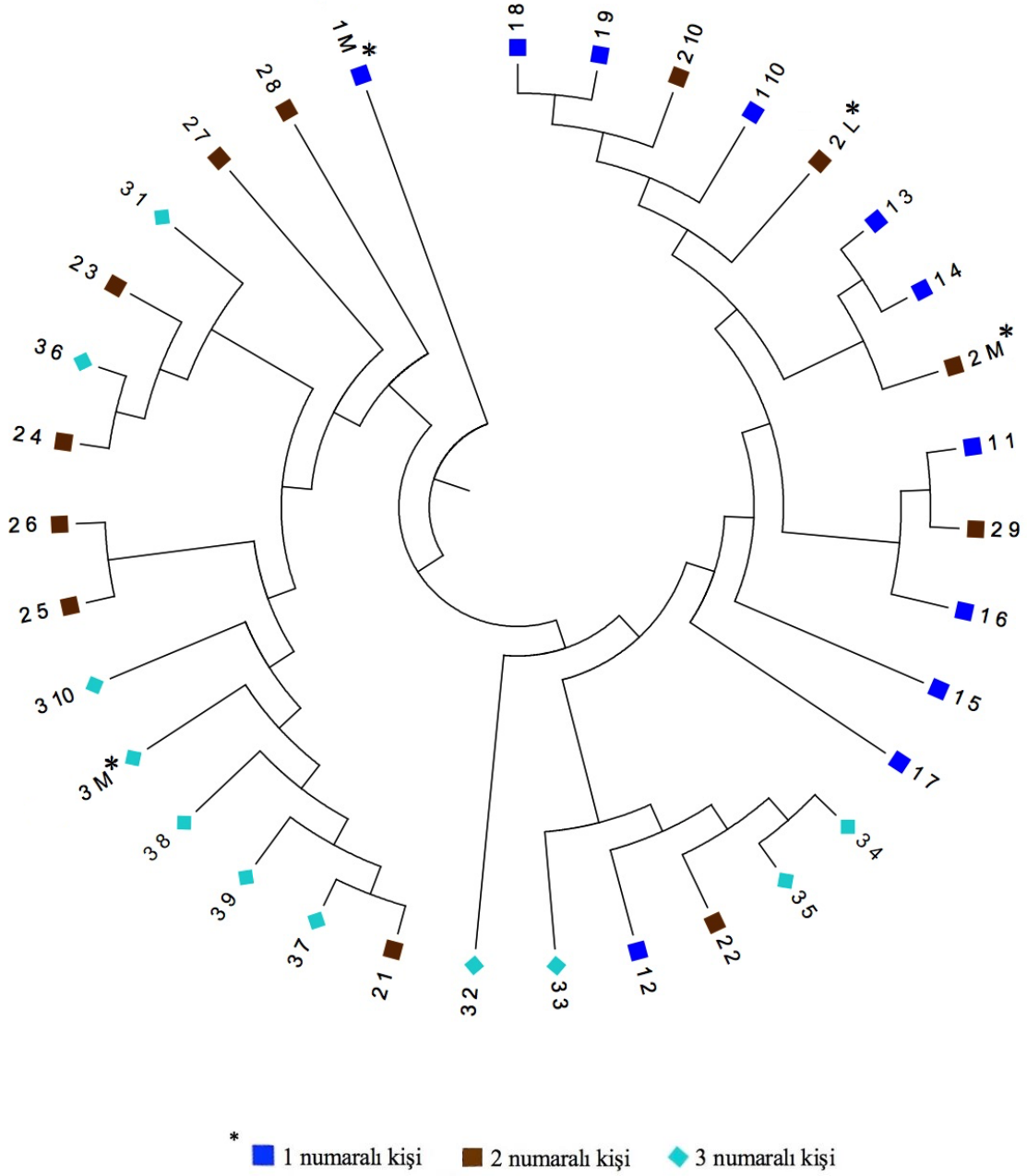
4.7. Kişisel Bilgisayarların Klavye Örnekleri ile El Mikrobiyota Örneklerinin *S. epidermidis*'in VNTR Bölgeleri için Filogenetik Analizi

Çalışmamızda üç kişiye ait kişisel bilgisayarları ile el mikrobiyota örneklerinin 16S bölgeleri değerlendirildiğinde, 13 küme ayrımı sağlanmıştır.

Bir numaralı kişinin el mikrobiyotasından ve kişisel bilgisayarından alınan mikrobiyota örneğinin *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları değerlendirildiğinde, kişinin 1. ve 6. gün örnekleri, 3. ve 4. gün örnekleri, ile 8., 9. ve 10 gün örnekleri kendi aralarında farklı köklerde kümelenme göstermiştir. Bununla birlikte kişinin 2., 5., 7., gün örnekleri ile 1 M* örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

İki numaralı kişinin el mikrobiyotasından ve kişisel bilgisayarlarından alınan mikrobiyota örneğinin *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları değerlendirildiğinde, kişinin 3. ve 4. gün örnekleri ile 5. ve 6. gün örnekleri farklı köklerde kümelenme göstermiştir. Bununla birlikte kişinin 10. gün örneği ile 2 L* numaralı örnek aynı kökte kümelenirken, 1., 2., 7., 8. ve 9. gün örnekleri ile 2 M* numaralı örnek filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Üç numaralı kişinin el mikrobiyotasından ve kişisel bilgisayarından alınan mikrobiyota örneğinin *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları değerlendirildiğinde, kişinin 1. ve 6. gün örnekleri ile 3., 4. ve 5. gün örnekleri farklı köklerde kümelenme göstermiştir. Bununla birlikte kişinin 7., 8., 9., 10. gün örneği ile 3 M* numaralı örnek aynı kökte kümelenirken, sadece 2. gün örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir (Şekil 19).*



Şekil 19: Kişisel bilgisayarlardan alınan klavye örnekleri ile el mikrobiyota örneklerinde *S. epidermidis* VNTR için filogenetik dendrogramı

(M*=Masaüstü bilgisayarın klavye örneği, L* = Laptop bilgisayarın klavye örneği)

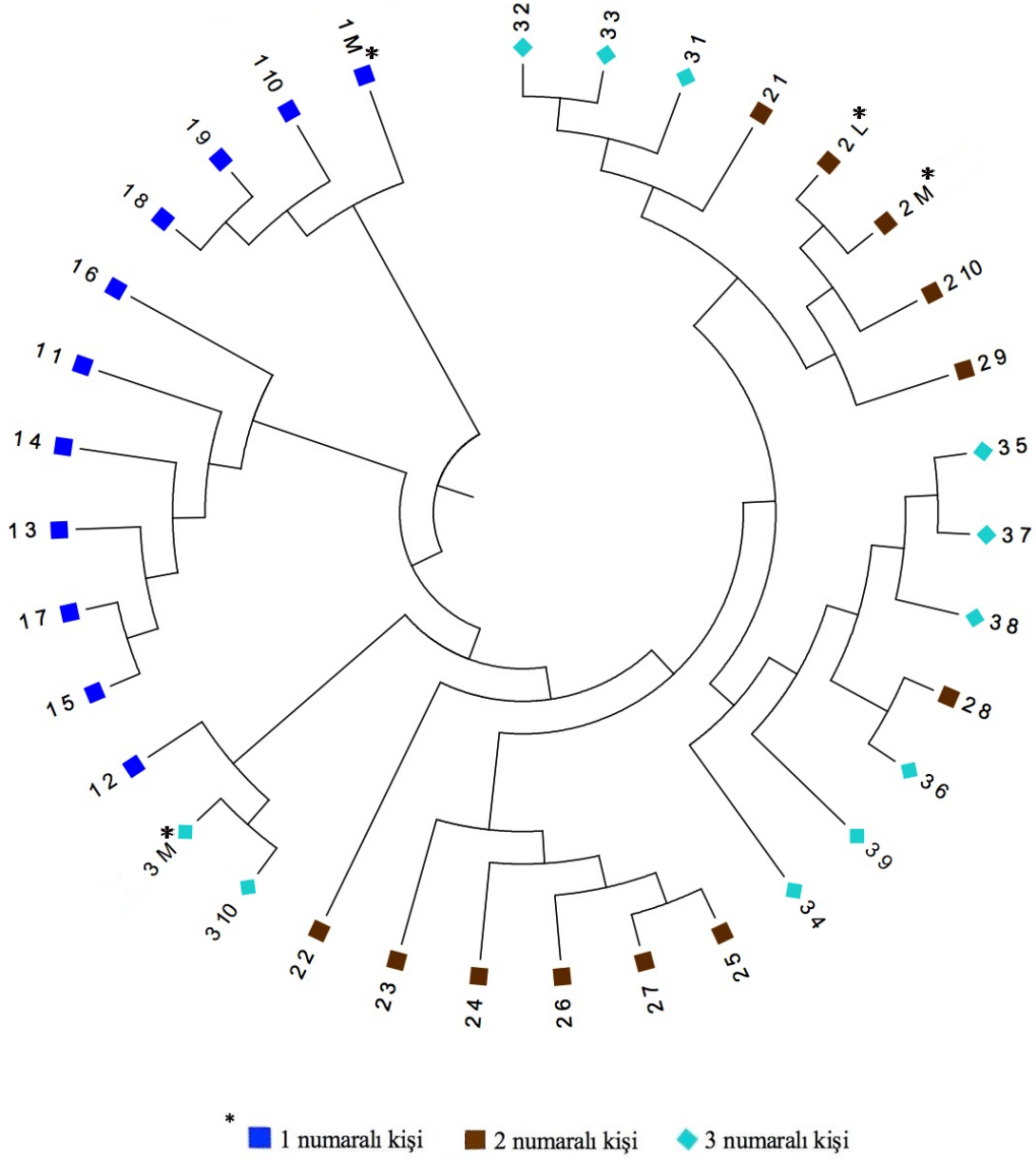
4.8. Kişisel Bilgisayarların Klavye Örnekleri ile El Mikrobiyota Örneklerinin 16S, 23S ve *S. epidermidis*'in VNTR Bölgeleri için Filogenetik Analizi

Çalışmamızda üç kişiye ait kişisel bilgisayarları ile el mikrobiyota örneklerinin 16S bölgeleri değerlendirildiğinde, 8 küme ayrımı sağlanmıştır.

Bir numaralı kişinin el mikrobiyotasından ve kişisel bilgisayarından alınan mikrobiyota örneğinde 16S, 23S ve *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları birlikte değerlendirildiğinde, kişinin 8., 9. ve 10. gün örnekleri ile 1M* örneğinin aynı kökte kümelenildiği gözlenmiştir. Bununla birlikte kişinin 1., 3., 4., 5. ve 7. gün örnekleri aynı kökte kümelenirken 2. gün örneği filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

İki numaralı kişinin el mikrobiyotasından ve kişisel bilgisayarından alınan mikrobiyota örneğinde 16S, 23S ve *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları birlikte değerlendirildiğinde, kişinin 9. ve 10. gün örnekleri ile 2M* ve 2L* örneklerinin aynı kökte kümelenildiği gözlenmiştir. Bununla birlikte kişinin 3., 4., 5., 6. ve 7., gün örnekleri aynı kökte kümelenirken 2. ve 8. gün örnekleri filogenetik dendogramda bağımsız yerleşim göstermiştir.

Üç numaralı kişinin el mikrobiyotasından ve kişisel bilgisayarından alınan mikrobiyota örneğinde 16S, 23S ve *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonları birlikte değerlendirildiğinde, kişinin 1., 2. ve 3. gün örnekleri ile 10. gün örneği ve 3M* örneğinin kendi içinde kümelenildiği gözlenmiştir. Bununla birlikte kişinin 3., 6. ve 9. gün örnekleri ile 5., 7. ve 8. gün örnekleri filogenetik dendogramda farklı köklerde kümelenme göstermiştir (Şekil 20).*



Şekil 20: Kişisel bilgisayarlardan alınan klavye örnekleri ile el mikrobiyota örneklerinde 16S, 23S ve *S.epidermidis* VNTR için filogenetik dendogramı

(M*=Masaüstü bilgisayarın klavye örneği, L* = Laptop bilgisayarın klavye örneği)

4.9. Kişilerin El Mikrobiyota Örneklerinde Benzerlik Oranlarının Değerlendirilmesi

Çalışmamızda kişinin el mikrobiyota örneklerinin benzerlik oranları PRIMER V7 programında değerlendirildi. Buna göre, 1 numaralı kişi %70.175 oranında en fazla 2 numaralı kişiye benzerlik göstermiştir. İki numaralı kişi %66.667 oranında 4 numaralı kişiye benzerlik gösterirken, 4 numaralı kişi %64.615 oranında en fazla 3 numaralı kişi ile benzerlik göstermiştir. Beş numaralı kişi %59.375 oranında 10 numaralı kişiye benzerlik göstermiştir. Bununla birlikte 6 numaralı kişi %61.932 oranında en fazla 8 numaralı kişiye benzerlik gösterirken, 8 numaralı kişi de %55.072 oranında 9 numaralı kişiye benzerlik göstermiştir. On numaralı kişi ise, en fazla %59.375 oranında 5 numaralı kişi ile benzerlik göstermiştir (Şekil 21).*

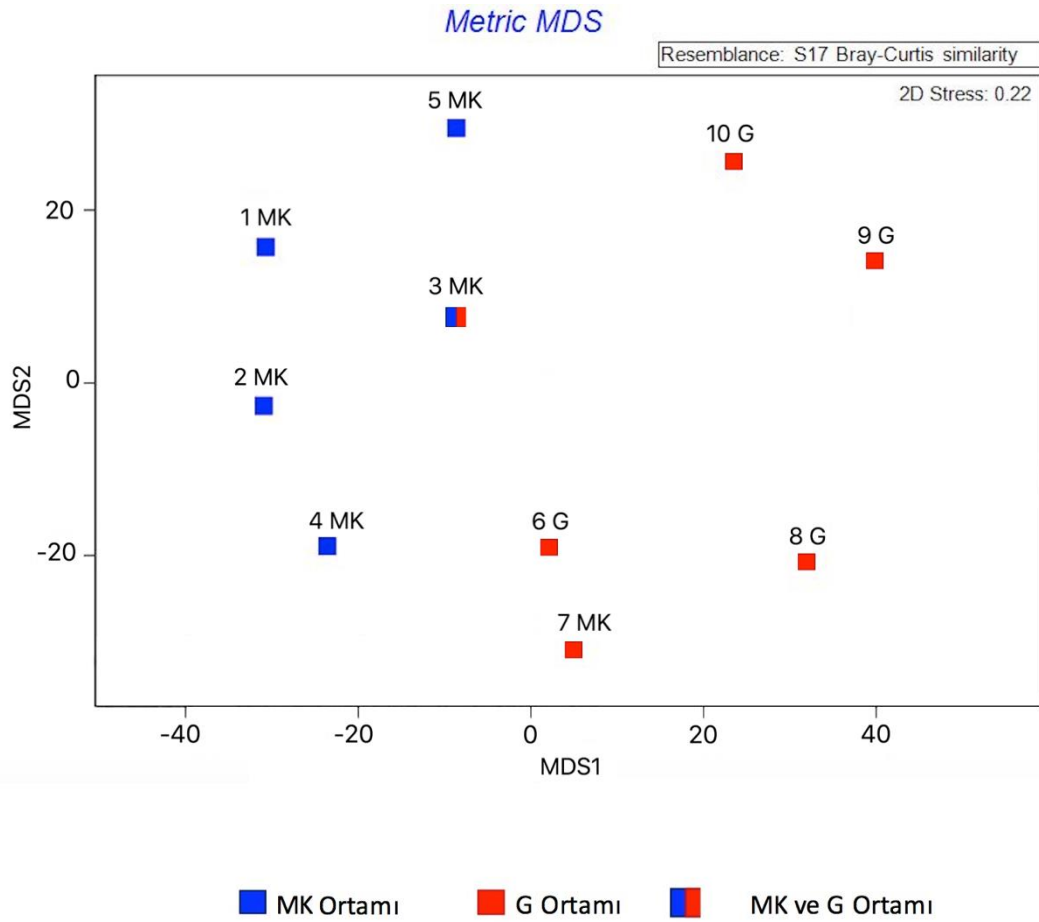
Similarity (0 to 100)

	1MK	2MK	4MK	7MK	3S	5G	6G	8G	9G	10G
1MK										
2MK	70.175									
4MK	60.317	66.667								
7MK	55.385	58.065	55.882							
3S	61.29	61.017	64.615	53.731						
5G	65.574	65.517	56.25	48.485	60.317					
6G	58.462	61.29	58.824	77.143	62.687	57.576				
8G	45.455	44.444	49.275	61.972	41.176	47.761	61.972			
9G	31.746	40	42.424	47.059	52.308	46.875	47.059	55.072		
10G	50.794	46.667	54.545	50	46.154	59.375	47.059	52.174	72.727	

Şekil 21: Kişilerin El Mikrobiyota Örneklerinin 'PRIMER V7' de Benzerlik Oranlarının Değerlendirilmesi

4.10. El Mikrobiyota Örneklerinin Kişilerin Buldukları Ortamlara Göre Değerlendirilmesi

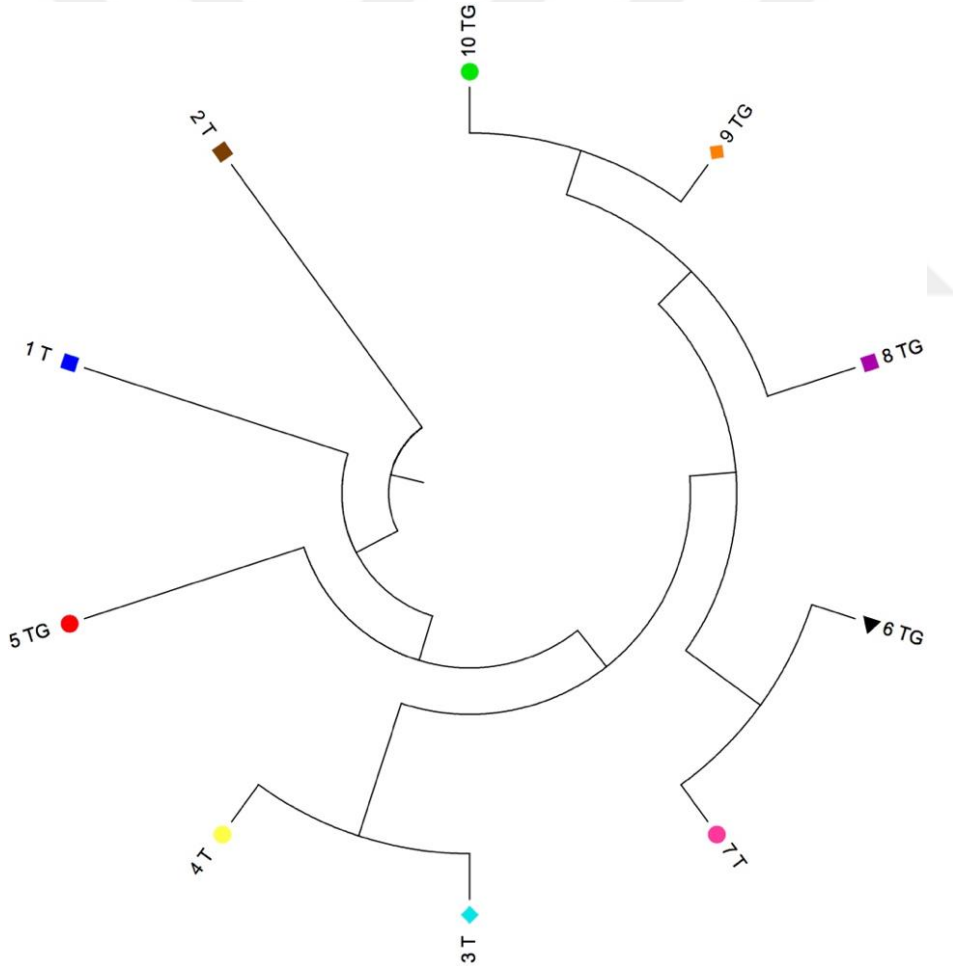
Çalışmamızda on kişiye ait el mikrobiyota örneklerin tüm verileri 'PRIMER V7' programında, 'Bray-Curtis' benzerlik değerlendirilmesine göre, kişilerin bulunduğu ortamların izilerini taşıdığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda yer alan kişiler iki farklı ortamda (MK ve G ortamı) çalışırken, her kişi kendi çalışma ortamına ait özellikler göstermiştir. Ayrıca 10 kişiden sadece 3 numaralı kişi her iki bölümde teması bulunurken, her iki ortama ait izleri de taşıdığı belirlenmiştir (Şekil 22).*



Şekil 22: El Mikrobiyota Örneklerinin Kişilerin Buldukları Ortamlara Göre 'Bray-Curtis' Benzerlik Analizinde Değerlendirilmesi

Kişilerin çalıştığı ortamlara göre ilişkisi 'Free Tree' ve 'Mega 7' programlarında değerlendirildiğinde, aynı ortamda çalışan kişiler aynı kökte kümelenirken, özellikle birlikte çalışan kişiler aynı kökte yer almıştır.

Çalışmada yer alan 1 numaralı ve 2 numaralı kişiler gün aynı ortamda fakat farklı odalarda bulunurken, el mikrobiyotaları da aynı şekilde birbirine yakın karakter gösterse birbirinden ayıran özellikler göstermiştir. Üç numaralı ve 4 numaralı kişi farklı ortamlarda çalışmasına rağmen, ortak çalışma sebebiyle gün içinde bir arada bulunması ile bu süre içinde aynı kökte kümelenme göstermiştir. Bununla birlikte aynı çalışma ortamında bulunan 8, 9 ve 10 numaralı kişiler, ortamın özelliklerini taşıyarak filogenetik dendogramda aynı kökte kümelenme göstermiştir. Ayrıca 6 numaralı kişi aynı ortamda çalıştığı kişiler ile benzerlik gösterde de 7 numaralı kişi benzerlik göstermiştir (Şekil 23).*



- *
■ 1 numaralı kişi ◆ 3 numaralı kişi ● 5 numaralı kişi ● 7 numaralı kişi ◆ 9 numaralı kişi
■ 2 numaralı kişi ● 4 numaralı kişi ▼ 6 numaralı kişi ■ 8 numaralı kişi ● 10 numaralı kişi

Şekil 23: El Mikrobiyota Örneklerinin Kişilerin Buldukları Ortamlara Göre 'Mega7' Benzerlik Analizinde Değerlendirilmesi

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Multidisipliner bir alan olan Adli Bilimler’de delil olayları aydınlatmayı sağlayacak en önemli öğedir. Hukukta suçun ispatı ve olayların aydınlatılması sonucu ceza hukuku yargılama sisteminde delile ihtiyaç duyulmaktadır. İncelenecek delil özelliği taşıyan her bulgu, olay yeri incelemesinin ardından delil teslim zinciri kriterleri bozulmadan ulaştırılması gerekir. Sonuçların analizi, yorumlanması ve mahkemeye iletmenin yanı sıra, bazı durumlarda etkenin etiyolojisini ve tipini belirlemeye yönelik çalışmalar da gerekmektedir. Delil niteliği taşıyan örnekler çoğu zaman birden fazla bilimdalıyla inceleme gerektirir. (129,130).

Olay yerinden toplanan, suçla ilgisi olabileceği düşünülen her delil, tanımlama ve karşılaştırma yapılarak kapsama veya dışlama yapabilme açısından önemlidir (131). Adli bilimlerde şüpheli ve delil arasındaki ilişki her zaman ‘Locard Prensibi’ ile açıklanır. Locard, “Her Temas Bir İz Bırakır.” prensibiyle değişim ilkesini açıklamıştır. Temasla yüzeye bir iz bırakırken, aynı şekilde yüzeyden de iz alarak değişim prensibi gerçekleşir (132,133). Olay yerinde bulunan parmak izi ve DNA adli bilimler açısından en önemli fiziksel deliller arasındadır.

Şüpheli bir kişiye ait parmak izinin değerlendirilmesinde, kişiye ait olup olmadığının tespitinde papil hatlarının 12-16 noktada benzerliği aranmaktadır. Karakteristik çizgiler 8-12 nokta arasında karşılaştırıldığında, güvenilirliği sınırlı kabul edilirken, 8’den az olduğu durumlarda ise identifikasyon için uygunluğu kabul edilemez.

Parmak izleri önemli delil özelliği taşısa da yetersiz kaldığı durumlar vardır. Fail çoğu zaman iz bırakmama amacıyla zımparalama, yakma veya kimyasal tahribat uygulayarak parmak izlerini yok etme amaçındadır. Bunun dışında, parmak izi parsiyel nitelik özelliği taşıdığı durumlarda da değerlendirilecek iz yeterli sayıda karşılaştırma noktası içermeyebilir. Bu durumda identifikasyon yapılamamaktadır. Aynı durum sürüntü parmak izlerinde de görülürken karşılaştırmaya yönelik inceleme için kesinlikle uygun değildirler ve yeterli sayıda nokta değerlendirilemediği için delil olarak kabul edilmez (35,36). Ancak DNA ve parmak izinin yeterli olmadığı durumlarda ortama bırakılan mikroorganizmalarla failin olayla ilişkisi açıklanabilmektedir.

Adli mikrobiyoloji alanında biyolojik suç, biyolojik terör ve epidemiyojisi, besin zehirlenmeleri ve postmortem incelemelerde (boğulma, toksikoloji, hastane kaynaklı

enfeksiyonlar, ani bebek ölümleri) mikroorganizmaları konuşurarak olaylar açıklanabildiği gibi son dönemdeki güncel gelişmeler farklı bakış açıları getirmiştir. Cilt, saç, vücut sıvıları, coğrafi konum için toprak mikrobiyomu ve ölüm zamanı belirlemede epinekrotik mikrobiyotanın kullanılması moleküler düzeyde detaylı ve fazla veri elde edilmesine olanak sağlamaktadır (134).

İnsan Mikrobiyom Projesinde tüm mikroorganizmaları tanımlamak, insanlar arasındaki mikrobiyom farklılıklarını ortaya koymak ve mikrobiyomların hastalıklarla ilişkisini araştırmak asıl amaçlar arasında olsa da kişiler arası özgün özellik taşıması adli bilimler açısından önemlidir (135).

Adli bilimlerde kimliklendirme her zaman önemli rol oynamıştır. Eşsiz genetik özellikleri açıklamaya yönelik yöntemler son yirmi yıldır önemli derecede yol almıştır. Ancak ikizleri tanımlama gibi bazı durumlarda sınırlamalar olabilir. Leake ve ark.'larının yaptığı çalışmada ikizlerden bir yıl ara ile farklı günlerde (1. ve 28. günler) örnek alınarak, tükürük mikrobiyotasında bulunan bakterilerinde ayırım gücünü arttıracak iki farklı bölge (16S rRNA ve rpoB) incelenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* ve *Fusobacteria* olarak beş grup bakteri tanımlansa da örnek alınma zamanı dikkate alınmaksızın örneklerin kişiye göre karakteristik özellik taşıdığı tespit edilmiştir. Bu durumda tükürükten elde edilen bakteriyel mikrobiyota kullanılarak iki kişiyi ayırt etmenin mümkün olduğu gösterilmiştir (136).

Mikroorganizmaların tespiti durumunda, mağdurda mevcut olan mikrobiyotanın ve alınan çevresel numunelerin karşılaştırılması yoluyla, birincil ve hatta ikincil ölüm yerinin ayırımı dahi yapılabilmektedir. Bununla birlikte mağdurda bulunan mikrobiyomlardan elde edilen sonuçlar sayesinde bu sonuçların olası şüphelilerle ilişkisi açıklanabilmektedir (134).

Kişinin belirlenemeyen ölüm sonrası zaman aralığı (Postmortem Interval; PMI), insan vücudu ile ilişkili biyolojik örnekler veya temas ettiği her ipucu adli olayları açıklamada yol göstericidir. Vakalarda yöntemlerin uygulanabilirliği ve doğruluğu koşullara ve zaman dilimine bağlıdır. PMI ve çürüme süreci belirli zaman ve aşamalarda gerçekleşirken mikroorganizmalar aktif görev almaktadır. Mikrobiyota ve yeni nesil dizileme teknolojisinin birlikte kullanımı daha fazla bilgi edinmeyi sağlayarak olumsuz sonuçlanmaları azaltmıştır (137).

Avrupa DNA Profil Grubu (The European DNA Profiling Group; EDNAP) periferik kan, menstrual kan, tükürük, semen, vajinal sekresyon ve cilt örnekleri ile mRNA ve miRNA

temelli çalışmalar yapmıştır. Her iki RNA yöntemiyle vücut sıvıları arasında ayırım yapma amaçlansa da tam olarak sağlanamamıştır (138).

Bir sürüntü çubuğunun 1cm²'sinde bulunan yaklaşık 10.000 mikrobiyal hücre, epitel hücreleri kadar kolaylıkla ciltten nesnelere aktarılabilmektedir (139). Yüzeğe aktarılan bakteriler uzun süre kalabildiği gibi, çoğu nem, sıcaklık ve UV dahil çevresel strese karşı oldukça dirençlidir. İnsan el mikrobiyotası dokunulan yüzeğe kolaylıkla aktararak kalabildiğinden, sağlık alanında enfeksiyon uzmanları tarafından özellikle el hijyeninin önemine dikkat çekilmiştir.

Zaman içinde kararlı ve karakteristik olan mikrobiyota elin yıkanmasından saatler sonra tekrar kendi özelliğine kavuşmaktadır. Adli bilimlerde önemli delil özelliği taşıyan kan, doku, semen veya tükürük gibi biyolojik delillerin özellikle olmadığı veya kullanılmadığı durumlarda özgün mikrobiyota örnekleri farklı bir delil kaynağı sağlamaktadır (140).

Schmedes ve ark.'ı cilt mikrobiyom çalışması için 2,5 yılda, 12 sağlıklı insan vücudundan 14 farklı örnek almıştır. Çalışmada, 3 kez alınan örneklerden 187 farklı mikroorganizma değerlendirilerek mikrobiyom profilinin oluşturulması amaçlanmıştır. Özellikle *Propionibacterium acnes*'in SNP ayırım gücü artırılmıştır. Uzun zaman aralığında yapılan çalışmada, mikrobiyotanın ne kadar değişiklik gösterdiği karşılaştırılmıştır (141).

Fierer ve ark.'nın yaptığı başka bir çalışmada ise, cilt ile ilişkili bakteri topluluklarının çeşitliliğinin ve şaşırtıcı derecede olan bireysel farklılığın adli tanımlamada kullanılması hedeflenmiştir. Cisimlere temas ile üzerinde kalan mikroorganizmalardan, hatta iki hafta süre ile dokunulmayan kişisel eşyalardan alınan örneklerle ayırt etme amaçlanmıştır. En fazla 12 saat kullanılan, 9 bilgisayar klavyesi ve fareden alınan örnekleri ile avuç içi floraları karşılaştırılmış, her bir örneğin kullanan kişiye önemli ölçüde benzer olduğu gösterilmiştir (87).

Mikrobiyom çalışmalarında metagenomik veri analizi ile kültürde tespit edilemeyen mikroorganizmaları belirlerken, kantitatif veri de sağlayabilmektedir. *Corynebacterium*, *Staphylococcus* ve *Propionibacterium* gibi cilt mikrobiyotasında baskın bulunan mikroorganizmaların farklı etkileşimlerini belirleme ve benzersiz özelliklerden yararlanmaya olanak sağlamaktadır (142).

Schommer ve ark.'ın yaptığı bir çalışmada, 16S rRNA gen bölgesinin filogenetik analizi kullanarak cilt mikrobiyotasında bulunan mikroorganizmaların topografik çeşitliliği

değerlendirilmiştir. Sonuçlarda en az 19 sınıfa ait mikrobiyom tespit edilirken bunlardan başlıcaları *Actinobacteria* (% 51,8), *Firmicutes* (% 24,4), *Proteobacteria* (% 16,5) ve *Bacteroidetes* (% 6,3)'dir. Tanımlanan cinslerin çoğunluğu *Corynebacterium*, *Propionibacterium* ve *Staphylococcus* iken, her birinin yoğunluğu türün özelliğine bağlıdır. Örneğin, yüzdeki yağlı bölgelerde *Propionibacterium* ve *Staphylococcus* türleriyle baskınken, aksilla gibi nemli bölgelerde *Staphylococcus* türleri de mevcut olmasına rağmen *Corynebacterium* türleri baskındır (143).

El mikrobiyotası diğer cilt bölgelerine göre daha değişken özellik göstermektedir. El mikrobiyomu kısa süreli değişiklikler göstereceğinden tek bir noktanın, tek örnek alımı ile değişmeyen “çekirdek mikrobiyomun” belirlenmesi için yeterli olmayabilir. Yapılan çalışmalarda 40'dan fazla sabunla el yıkanması veya el antiseptiği kullanımında kısa süreli değişiklikler ve çeşitlilik azalsa da çekirdek mikrobiyota tespit edilebilmiştir. Başka bir çalışmada ise, el yıkama sayısı ile mikrobiyotadaki çeşitliliğin azalmasının korele olmadığı belirtilmiştir (144).

Metagenomik çalışmalar, cilt mikrobiyotasındaki çeşitliliğin ortaya konulmasına hız katarak taksonomik çeşitliliğini değerlendirmeye olanak sağlamıştır. Aynı şekilde çekirdek mikrobiyomda bulunan mikroorganizmalardan *Propionibacterium acnes*, *S. epidermidis* ve *S. aureus*'un sağlıklı veya hastalıkta patojen özelliği arasındaki dinamiklerin açıklanmasına da katkı sağlamıştır (145).

Olay yerinden alınan suçla ilişkili olabilecek her delil, karşılaştırma sonucu dışlama veya kapsama yapabilme açısından değerlendirmek için önemlidir (131). Şüpheli ile delil ilişkilendirmesinde kullanılacak her yöntem aynı amaç için uygulanmaktadır. Günümüzde gelişen teknoloji daha kısa sürede ve detaylı bilgi edinmeyi sağlarken mikrobiyoloji alanında kültüre edilemeyen, tanımlanamayan örnekler moleküler yöntemler ile tespit edilebilmektedir (139). Günümüzde teknolojinin geliştiği gibi planlı ya da plansız işlenen suçlarda da delil yok etme amacıyla farklı düşünce ve teknikler geliştirilmektedir. Bırakılan veya sahip olunan parmak izini ya da DNA'yı yok etme çabalarına karşılık kişisel mikrobiyolatalarla ilişkilendirme farklı bir bakış açısı sağlamıştır.

Çalışmamızda ardışık olmayan zaman diliminde alınan el mikrobiyota örneklerinde çekirdek mikrobiyotasının değişmediği ve kişisel eşyalarında bu karakteristik izleri taşıdığı gösterilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, farklı meslek, yaş, cinsiyet ile birlikte el mikrobiyotasını etkileyebilecek diğer özelliklerden, el yıkama sayısı ve antibiyotik

kullanımı dikkate alınmıştır (Tablo: 2). Çalışmamızda iki öğretim üyesi, iki öğrenci, iki temizlik personeli, üç farklı alanlarda çalışan laboratuvar personeli ve bir doktordan alınan örnekler 16S rRNA, 23S rRNA reaksiyonları ECOR1 ve HINIII enzimleri ile kesimi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca *S. epidermidis*'e ait VNTR reaksiyonları ile birlikte ayırım gücünü artırma amacıyla tüm parametrelere ait veriler birlikte değerlendirilmiştir.

El mikrobiyota örneklerinin 16S rRNA bölgesi değerlendirildiğinde özellikle 4, 6, 8 ve 9 numaralı kişilerin diğer kişilere göre belirgin kümelenme gösterdiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte diğer kişiler filogenetik dendogramda dağınık yerleşim göstermiştir.

16S rRNA bölgeleri incelendiğinde, özellikle 4 numaralı örnek dikkat çekmektedir. Dört numaralı kişi enfeksiyon laboratuvarı çalışanı olarak el yıkama sayısının fazla olması ve çok çeşitli ve dirençli mikroorganizma ile etkileşimde olmasına rağmen kişisel el mikrobiyota örneğinin karakteristik ve stabil olduğu tespit edilmiştir. Filogenetik dendogramda özellikle kendi içerisinde kümelenirken 6 kişi (1, 3, 5, 8, 9 ve 10 numaralı kişi) ile benzerlik göstermiştir. Bu durumda 4 numaralı kişi, 3 kişiden tamamen dışlanarak ayrılma göstermiştir. Ayrıca 4 numaralı örneğin benzerlik gösterdiği kişilerden ikisi (1 ve 3 numaralı kişi) belirli zamanlarda aynı ortamı kullanmaktadır. Bu durumda Locard Prensibi'nde olduğu gibi, iz bırakılan yerden bir izin alınması durumunun kişilerin el mikrobiyotalarında da birbirine aktarımı ile gösterilmiştir. Farklı örnekler farklı günlerde benzerlik gösterse dahi aynı gün orada bulunmadığından yine ayırım olarak düşülmesi mümkündür.

Ayrıca 6 numaralı kişi de özellikle 3 kişi (7, 8 ve 9 numaralı kişi) ile benzerlik gösterirken diğerleri ile ayırım göstermiştir. Temizlik personeli olarak görev yapan 7 numaralı kişinin 16S bölgesi değerlendirildiğinde ise 5 kişiye (3, 6, 8, 9, 10 numaralı kişi) yakınlık gösterirken, 4 kişiden (1, 2, 4 ve 5 numaralı kişi) tamamen dışlanmıştır. Sekiz numaralı kişi ise temizlik görevi gereği deterjan ve günde 15 üzeri el yıkama sayısına rağmen çekirdek mikrobiyotasını kaybetmemiştir. Bununla birlikte 5 kişiye (1, 3, 7, 9 ve 10 numaralı kişi) benzerlik gösterirken, 4 kişiden (2, 4, 5 ve 6 numaralı kişi) dendogramda farklı yerleşim göstererek dışlanmıştır. Ayrıca genetik laboratuvarında çalışan 9 numaralı kişinin 16S bölgesi için 5 kişiye (3, 6, 7, 8 ve 10 numaralı kişi) benzerlik gösterirken, 4 kişiden (1, 2, 4 ve 5 numaralı kişi) tamamen dışlanmıştır.

Kişilerin el mikrobiyotasına ait 23S bölgesinin filogenetik analizinde 10 kişiden 5'i (1, 2, 3, 4 ve 10 numaralı kişi) en az 5 gün örneğinde kendi aralarında kümelenirken daha stabil karakter göstermiştir.

Bir numaralı kişi, 5 kişi (2, 4, 8, 9 ve 10 numaralı kişi) ile benzerlik gösterirken, 4 kişiden (3, 5, 6 ve 7 numaralı kişi) tamamen dışlanarak ayrılma göstermiştir. Ayrıca benzerlik gösteren 5 kişiden sadece bir kişi tanımadığı ve bağımsız yerlerde bulunan kişidir. Öğretim üyesi olan bir numaralı kişi, uzmanlık alanının enfeksiyon olması, yoğun bakım görevi ile birlikte el yıkama sayısının oldukça yüksek olmasına rağmen çekirdek florasının korunduğunu gösterilmiştir. İki numaralı kişi, 1 numaralı ve 3 numaralı kişi ile gün içi paylaşımlarının fazla olmasına rağmen kendi mikrobiyota özelliklerini koruyarak özellikle 1 numaralı kişi ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Üç numaralı kişi ise 23S bölgesi için 4 kişiye (2, 4, 5 ve 8 numaralı kişi) benzerlik gösterirken, 6 kişiyle (1, 6, 7, 9 ve 10) ayrım göstererek dışlanma sağlanmıştır. Bununla birlikte diğer örneklerin sadece 23S rRNA sonuçları değerlendirilerek sınırlı oranda dışlama ya da kapsama yapılabildiği tespit edilmiştir.

Kişilerin el mikrobiyotasına ait *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyonlarının filogenetik analizine göre 10 kişiden 4'ü (1, 4, 5 ve 10 numaralı kişi) en az 5 gün örneğinin kendi aralarında yakın köklerde kümelendiği, 6 kişinin örnekleri sadece *S. epidermidis* VNTR sonuçları değerlendirilerek sınırlı oranda dışlama ya da kapsama yapılabildiği tespit edilmiştir.

Beş numaralı kişi, 5 kişi (2, 3, 7, 8 ve 10 numaralı kişi) ile benzerlik gösterirken, 4 kişiden (1, 4, 8 ve 9 numaralı kişi) ayrım göstererek tamamen dışlama sağlanmıştır. Beş numaralı kişinin el mikrobiyota örneğini etkileyebilecek koşullardan en dikkat çekici nokta toplu taşımayı kullanması olsa da çekirdek mikrobiyotasını koruduğu tespit edilmiştir. Diğer kişilerin örneklerinde sınırlı oranda dışlama ya da kapsama yapılabilirken *S. epidermidis* VNTR için özellikle 3, 7 ve 10 numaralı kişiler için belirli köklerde kümelenme sağlanamamıştır.

Kişilerin el mikrobiyotasına ait 16S, 23S ve *S. epidermidis*'in VNTR reaksiyon sonuçları hassasiyeti ve ayrım gücünü arttırmak için birlikte değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre on kişiden 6 kişinin (2, 4, 5, 6, 7 ve 10 numaralı kişi) el mikrobiyotası filogenetik analiz belirgin kümelenme göstermiştir.

İki numaralı kişinin tüm verileri birlikte değerlendirildiğinde sadece 8. gün örneği filogenetik dendogramda farklı kökte yerleşim göstermiştir. İki numaralı kişi topikal antibiyotik kullanmasına rağmen çekirdek mikrobiyotasını korumuştur. Aynı şekilde 4 numaralı kişinin de tüm verileri birlikte değerlendirildiğinde sadece 7. gün örneği filogenetik dendogramda farklı kökte yerleşim göstermiştir. Dört numaralı kişi enfeksiyon laboratuvarı çalışanı olarak çeşitli ve dirençli mikroorganizmalı ortamda bulunarak fazla el yıkama sayısı olsa da çekirdek el mikrobiyotasını korumuştur.

Çalışmamızda tüm verileri birlikte değerlendirilen 10 numaralı kişinin el mikrobiyota örnekleri filogenetik dendogramda aynı kökte kümelenme göstermiştir. On numaralı kişi, poliklinik yapan ve el yıkama sayısı fazla olmasına rağmen el mikrobiyotasını koruduğu tespit edilmiştir. Özellikle 4 kişi (3, 7, 8 ve 9 numaralı kişi) ile benzerlik gösterirken diğer kişilerden ayırım göstererek dışlanmıştır.

Ayrıca toplu taşıma aracı kullanan 5 numaralı kişinin el mikrobiyotası korunurken, sadece 3 kişi (1, 6 ve 8 numaralı kişi) ile benzerlik göstermiştir. Bu durumda 5 numaralı kişi çalışmamızda bulunan 10 kişinin 6'sında tamamen dışlanmıştır. Bununla birlikte, filogenetik dendogramda benzerlik gösteren 6 ve 8 numaralı kişiler ile 5 numaralı kişinin 2. gün örneklerinin aynı kökte kümelenmesi, aynı gün ve aynı ortamda bulunduğunu göstermesi açısından dikkat çekicidir.

Çalışmamızda ayrıca, üç kişinin el mikrobiyota örnekleri ile kişisel bilgisayarlarının mikrobiyotaları karşılaştırılmıştır. El mikrobiyota izlerinin kişisel eşyalara aktarımını değerlendirme amacıyla üç kişinin bilgisayarlarından alınan mikrobiyota örneklerinin 16S, 23S, *S. epidermidis*'in VNTR bölgeleri çalışılmıştır.

Kişisel bilgisayarlardan alınan klavye örnekleri ile el mikrobiyota örneklerinin 16S bölgesi değerlendirildiğinde, 3 numaralı kişinin el mikrobiyotası ile bilgisayarının mikrobiyota örneği filogenetik dendogramda aynı kökte yer alırken, 1 numaralı kişinin el mikrobiyota örneği bilgisayarının mikrobiyotası ile eşleşme sağlanamamıştır. Ancak 2 numaralı kişinin iki farklı bilgisayar (M*=Masaüstü bilgisayarın klavye örneği, L* = Laptop bilgisayarın klavye örneği) örneğinin birebir aynı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca 2 numaralı kişi ile 1 numaralı kişi filogenetik dendogramda aynı kökte kümelenirken, 3 numaralı kişi farklı kökte yer alarak diğer kişilerden dışlanmıştır.

Kişisel bilgisayarlardan alınan klavye örnekleri ile el mikrobiyota örneklerinin 23S bölgesi değerlendirildiğinde, 3 numaralı kişinin el mikrobiyotası ile bilgisayarının

mikrobiyota örneği filogenetik dendogramda aynı kökte yer alırken, 1 ve 2 numaralı kişinin el mikrobiyota örnekleri ile bilgisayar mikrobiyota örnekleri farklı kökte yerleşim göstererek 3 numaralı örnek için dışlama sağlanmıştır. İki numaralı kişi iki farklı bilgisayar (M*=Masaüstü bilgisayarın klavye örneği, L* = Laptop bilgisayarın klavye örneği) örneği ile uyum sağlarken, 1 numaralı kişi ile ayrımı sağlanamamıştır. Kişisel bilgisayarların mikrobiyota örneklerinin, 2 ve 3 numaralı el mikrobiyota örnekleri ile uyum gösterirken 1 numaralı kişi ile uyum göstermemiştir.

Kişisel bilgisayarlardan alınan klavye örnekleri ile el mikrobiyota örneklerinin *S. epidermidis* VNTR reaksiyonları değerlendirildiğinde, 3 numaralı kişinin el mikrobiyotası ile bilgisayarının mikrobiyota örneği filogenetik dendogramda aynı kökte yerleşim gösterirken 1 ve 2 numaralı kişinin el mikrobiyota örnekleri ile bilgisayar mikrobiyota örnekleri farklı kökte yerleşim göstermiştir. *S. epidermidis* VNTR reaksiyonlarına göre 1 ve 2 numaralı kişi birbirinden tamamen dışlanamamakla birlikte 3 numaralı kişi 1 numaralı kişiden ayrılabilmiştir.

Son olarak, kişisel bilgisayarlardan alınan klavye örnekleri ile el mikrobiyota örneklerinin 16S, 23S ve *S. epidermidis* VNTR bölgeleri birlikte değerlendirilerek ayırım gücü ve hassasiyeti arttırılmıştır. Çalışmamızda yer alan üç kişinin de el mikrobiyotaları ve kişisel bilgisayar mikrobiyotaları filogenetik dendogramda uyum göstermiştir. Bununla birlikte, 1 numaralı kişi farklı kökte yerleşim göstererek 2 ve 3 numaralı kişilerden tamamen dışlanmıştır. İki numaralı kişinin iki farklı kişisel bilgisayar mikrobiyotasında tamamen aynı karakter göstermiştir. Ayrıca 2 numaralı kişi, 3 numaralı kişi ile gün içinde aynı çalışma ortamında bulunmaları ile tam olarak dışlama sağlanamamıştır.

Buna göre çalışmamızda, mikroorganizmaların klasik yöntemlerle tespit edilemediği durumlarda moleküler yöntemlerle sağlanabildiği ve çok daha detaylı veri elde edildiği gösterilmiştir. Bununla birlikte çekirdek el mikrobiyotalarının, kişilerin yaşam şartlarına ve el yıkama sayısına bağlı olarak değişmediği tespit edilmiştir. Kişilerin toplu taşıma, enfeksiyon laboratuvarı veya poliklinik gibi mikrobiyatayı etkileyebilecek ortamlarda çok çeşitli mikroorganizma bulunmasına rağmen, kendi mikrobiyota izlerini kaybetmediği tespit edilmiştir. Çalışmamızda kişilerin kişisel bilgisayarlarından alınan örnekler değerlendirildiğinde, mikroorganizmaların canlıdan cansız cisimlere aktarılarak belirli süre kendi özelliğini koruduğunu göstermiştir.

Ayrıca çalışmamızda yer alan kişiler çalışma ortamlarına göre değerlendirildiğinde; her kişinin kendi çalışma ortamındaki izleri taşıdığını göstermiştir. Bu durumda elde ettiğimiz sonuçlar alınan örneklerin kişisel ve değişmeyen çekirdek mikrobiyota özelliği ile birlikte bulunduğu biyocoğrafik ortamın özelliklerini de tanımlamıştır. Buna göre iki farklı ortamda bulunan kişilerin el mikrobiyota örnekleri kendilerine ait çalışma ortamları ile uyumluluk göstererek iki grubun ayrımı sağlanabilmiştir.

Adli bilimlerde parmak izi analizi ve DNA identifikasyonu en çok kullanılan yöntem olsa da, değerlendirme için yetersiz, kontaminmine veya degrade örnek sorunları sıkça yaşanmaktadır. Bu gibi durumlarda aynı veya farklı delil materyalinin farklı yöntemle incelenmesi olayın açıklanabilmesi için yön vericidir.

Projemizde el mikrobiyota örneklerinde 16S, 23S gen bölgelerinin ribotiplendirmesi ve *S.epidermis*'e ait VNTR analizi değerlendirilmiştir. Ayrım gücünü artırma amacıyla birlikte değerlendirilen verilerde 12 küme ayrımı sağlanmıştır. Bununla birlikte kişiler arası benzerlik oranı en fazla %77.143 tespit edilirken, en az benzerlik oranı %31.746 olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre, görünmeyen delil niteliğindeki el mikrobiyota örneklerinin filogenetik analizi ile kişiler arası kapsama veya dışlama sağlanabilmiştir. Bu durumda elde ettiğimiz sonuçlar, adli bilimlerde çekirdek el mikrobiyota örneğinin delil niteliğinde kullanılabileceğini göstermiştir.

Rutinde kullanılan sekans temelli yöntemlerde tedarikçi firma ve cihaz bağıllığı bulunurken, çalışmamız her hangi bir ekipman ve malzeme bağıllığı olmadan, temel genetik laboratuvarlarında kullanılan malzemelerle uygulanabilirliğini göstermiştir.

Günümüzde hızla gelişen yöntemlerden YND yönteminin maliyeti, çalışmamızda uyguladığımız ribotiplendirme ve VNTR yöntemlerine göre, sadece kit ve sarf maliyeti 4.5 kat daha fazladır. Ayrıca YND yönteminin ülkemizdeki tüm bölgelerde ve tüm laboratuvar şartlarında kullanılabilmesi olanaksız olmakla birlikte, çalışmamız klasik ve maliyetsiz yöntemle, kısıtlı koşullarda dahi olayların çözülmesine olanak sağlayacaktır.

Bu çalışma, adli bilimlerde çekirdek el mikrobiyota örneğinin delil niteliğinde kullanılabileceğini doğrularak, kişiye özgü mikrobiyotalarda değerlendirilecek bölge sayısının artırılarak rutinde daha etkin bir şekilde kullanılabileceğini göstermiştir.

KAYNAKLAR

1. Gupta V.K., Paul S., Dutta C., Geography, Ethnicity or Subsistence-Specific Variations in Human Microbiome Composition and Diversity. *Front Microbiol.* 2017; 23;8:1162.
2. Zapka C., Henley L.J., Tittl J., Nardo E. De., Butler M., Griggs R., et al., Comparison of Standard Culture-Based Method to Culture-Independent Method for Evaluation of Hygiene Effects on the Hand Microbiome. *MBio.* 2017; Mar 28;8(2).
3. Wilkins D., et al., Microbiota fingerprints lose individually identifying features over time. *Microbiome.* 2017; Jan 9;5(1):1.
4. Fierer N., Christian L. Lauber, Nick Zhou, Daniel McDonald, Elizabeth K., et al. Forensic identification using skin bacterial communities. *Proc Natl Acad Sci.* 2010;107:6477–81.
5. Wood M., Gibbons S.M., Lax S., Eshoo-Anton T.W., Owens S.M. et al., Athletic equipment microbiota are shaped by interactions with human skin. *Microbiome.* 2015; 3:25.
6. Lax S., Smith DP., Hampton-Marcell J., Owens SM., Handley KM., Scott NM., Gibbons SM., Larsen P. et al., Longitudinal analysis of microbial interaction between humans and the indoor environment. *Science.* 2014; 345:1048–52.
7. Wilkins D., Leung MH., Lee PKh., Indoor air bacterial communities in Hong Kong households assemble independently of occupant skin microbiomes. *Environ Microbiol.* 2016;18:1754–63.
8. Tuğ A. Adli Bilimler ve Mikrobiyoloji. *Adli Tıp Dergisi.* 2009; 23(1): 47-55.
9. Elizabeth A., Segre JA. The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol.* 2011 Apr; 9(4): 244–253.
10. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012;486:207–14.
11. Crime Scene Investigation- A Guide for Law Enforcement (2013) [PDF belgesi]. Alıntı:[https://www.nist.gov/sites/default/files/documents/forensics/Crime-Scene Investigation.pdf](https://www.nist.gov/sites/default/files/documents/forensics/Crime-Scene%20Investigation.pdf)
12. James HS., Nordby J.J. Forensic science: An introduction to scientific and investigative techniques. 2003. CRC Press, Florida.

13. <http://tjofmap.tripod.com/sitebuildercontent/sitebuilderfiles/kitap.pdf>. Erişim tarihi: 28.03.2018
14. Durmuş K., Olay yeri incelemesinde ve örnek alımında delilin devamlılığının sağlanması, [Yüksek Lisans Tezi], İstanbul, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, 2003.
15. Bayer M., Olay Yeri İnceleme: Kriminal Laboratuvar Analizleri, s: 25-27, Songür Yayıncılık, Ankara, 2003.
16. Sever H., Olay Yeri İnceleme Hizmetlerine Post-Mortem Yaklaşımlar, Emniyet Genel Müdürlüğü Polis Dergisi, 2006.
17. Fisher BAJ., Techniques of Crime Scene Investigation, p:208, CRC Press Florida. 2004
18. Bulut Ö., Bol S, Karakuş O, Polis Bilimleri Dergisi, Adli Vakalara Ait İskelet Buluntuları için Saha Prosedürü ve Standartları, p:15(3) 2013.
19. Metcalf J.L., Xu Z.Z., Bouslimani A., Dorrestein P., Carter DO., Knight R. Microbiome Tools for Forensic Science, *Cell Press-Reviews*, Vol.35, No. 9, September 2017.
20. Inman K., Rudin N. Principles and Practice of Criminalistics The Profession of Forensic Science, pp.105-108, CRC Press LLC, Florida. 2001.
21. Saferstein R., Criminalistics: An Introduction to Forensic Science, 6th Edition. Englewood Cliffs, N.J.: Prentice-Hall, 1998.
22. Kalfoğlu EA., Yükseloğlu H. İnsan Genomu, Suç ve Suçun Önlenmesi. DEU Tıp Fakültesi Dergisi. 71-81., 2002.
23. Ögdür M., Olay Yerlerinden Biyolojik Delil Olarak Alınabilen Kan Örneklerinin Bozulmasına Sebep Olabilecek Mikrobiyolojik Etkenlerin Araştırılması. [Yüksek Lisans Tezi]. 2014.
24. Karakuş O., Kriminalistik, s: 8 Adalet Yayıncılık, Ankara. 2009.
25. EGM Olay yeri İnceleme ve Kimlik Tespiti Yönetmeliği, Madde 4, 2008.
26. Svensson A., Wendel, O., Crime Detection Modern Methods of Criminal Investigation, 1th edition, pp.80-103, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, 1955.

27. Çöloğlu S., Adli Olaylarda Kimlik Belirlenmesi, 31:73-92, Adli Tıp Cilt 2, İstanbul Üniversitesi Basımevi, İstanbul, 1999.
28. Karakuş O., Adli Bilimler, s:10-13 Adalet Yayıncılık, Ankara, 2011.
29. Bowers C.M., Forensic Dental Evidence. An Investigator's Handbook, Elsevier Academic Press, New York, USA, 2004; 32:22-58.
30. Kalsoğlu EA., Hürben H., Cinnioğlu C., Yükseloğlu H., Atasoy S., Identification and Individualisation Guideline Proposal for Condoms as Trace Evidence, American Academy of Forensic Sciences 51^t, Annual Meeting Orlando USA Proceedings, pp. 20. 1999.
31. Petridis G., Parmak İzlerinden Elde Edilen Dna'nın Mini STR Tekniği ile İncelenmesi. [Doktora Tezi] İstanbul. 2011.
32. Henderson J. P., The use of DNA statistics in criminal trials. *Forensic Science International*. 128: 183-186, 2002.
33. <http://bilirkisiraporlari.com/parmak-izi-ve-kimlik-tespiti>. Erişim tarihi: 09.01.2019
34. The Practice of Crime Scene Investigation. Chapter: Fingerprint identification. EDITED By John Horswell. CRC Press, Boca Raton London New York Washington, D.C., 2004.
35. Maltoni D., Maio D., Jain A.K., Prabhakar S., "Handbook of Fingerprint Recognition." New York. 2003.
36. Akın H., Karaçam B., Gürpınar K., Kimliklendirmede Biyometrik Yöntemlerin Kullanım Alanları. Yıllık Adli Tıp Toplantıları, Antalya, 2002.
37. Karabey E., Hırsızlık Olaylarında Gözeneksiz Yüzeylerde Tespit Edilen Parmak İzlerinin Ortam Koşullarına Göre Değerlendirilmesi, [Yüksek Lisans Tezi] Bursa, 2017,
38. Adli Tıp Stajı Ders Notları, Celal Bayar Üniversitesi, Manisa, 2005.
39. Shewmaker PL, Gertz RE Jr, Kim CY, de Fijter S, DiOrio M, Moore MR, Beall BW. Streptococcus salivarius meningitis case strain traced to oral flora of anesthesiologist. *Journal of Clinical Microbiology*. 48:2589-2591, 2010.
40. Srinivasan V, Gertz RE Jr, Shewmaker PL, Patrick S, Chitnis AS, O'Connell H, et al. Using PCR-based detection and genotyping to trace Streptococcus salivarius

- meningitis outbreak strain to oral flora of radiology physician assistant. *PLoS ONE*. 7(2): e32169. 2012.
41. Unemo M. & Dillon J-A.R. Review and international recommendation of methods for typing *Neisseria gonorrhoeae* isolates and their implications for improved knowledge of gonococcal epidemiology, treatment, and biology. *Clinical Microbiology Reviews*. 24: 447-458. 2011.
 42. Sexually Transmitted Microbes as Markers in the Investigation of Child Sex Abuse, B. Hill, B. Brunelle, G.F. Sensabaugh, pp: 489-491, *Progress in Forensic Genetics* 8.
 43. Morse, S.A. & Khan, A.S. A Guide to Forensic DNA Profiling, Book, WILEY, 2005.
 44. Epidemiologic investigation for public health, biodefence, and forensic microbiology. In: Breeze, R.G., Budowle, B. & Schultzer, S.E. (eds) *Microbial Forensics*. pp. 157-173. Elsevier, Amsterdam, Holland.
 45. Wheelis M. & Sugishima M. Terrorist use of biological weapons. In: Wheelis, M., Rózsa, L. & Dando, M. (eds) *Deadly Cultures*. 2006; pp. 284-303. Harvard University Press. Massachusetts, USA.
 46. Christie B. Heroin contaminated with anthrax has killed 11 people. *British Medical Journal* 2010;340: c937.
 47. Alan G, Sarah JP. Microbes as forensic indicators. Review Paper, *Tropical Biomedicine*. 29(3); 311-330, 2012.
 48. Petrisor I., Kitts C. Advances in forensic microbiology. *Environ Forensics*. 2004;5:59-60.
 49. <http://www.slic2.wsu.edu/micro101/pages/101biologicalweapons.html>. Erişim tarihi: 20.02.2013
 50. Budowle B. Genetics and attribution issues that confront the microbial forensics field. *Forensic Sci Int.*;Dec 2(146): 185-8. 2004.
 51. Henderson D.A. The looming threat of bioterrorism. *Science*. 1999; 283:1279-82.
 52. Budowle B. Toward a system of microbial forensics: From sample collection to interpretation of evidence. *Appl Environ Microbiol*. 2005; May 71(5): 2209–13.

53. Budowle B, Harmon R. HIV legal precedent useful for microbial forensics. *Croat Med J.* 2005;46(4):514-21.
54. Metzker M.L., Mindell D., Liu X.M., Ptak R.G., Gibbs R.A., Hillis D.M. Molecular evidence of HIV-1 transmission in a criminal case. *PNAS.* October 29, 2002. 99 (22) 14292-14297; <https://doi.org/10.1073/pnas.222522599>.
55. Török TJ, Tauxe RV, Wise RP, Livengood JR, Sokolow R, Mauvais S, et al. A large community outbreak of salmonellosis caused by intentional contamination of restaurant salad bars. *JAMA* 1997;278(5):389-95.
56. Soysal Z., Eke M., Çağdır A.S. Adli Otopsi Bulgularında Mikrobiyolojik İncelemeler. Adli Otopsi Cilt II. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları No:4164, Bölüm 31;499-509. 1999.
57. Budowle B., Murch R., Chakraborty R. Microbial forensics: The next forensic challenge. *Int J Legal Med.* 2005;119(6):317-30.
58. <http://www.washingtonpost.com/wp-dyn/article>. Erişim tarihi:22.04.1014
59. Ziyade N. Postmortem Mikrobiyolojik Analizler Güncel Yaklaşım. Adli Tıp Bülteni. 2014;17(1):32-42. DOI: <https://doi.org/10.17986/blm.20121712>.
60. Cooke C.L., Seçilmiş Genetik Tiplendirme Yöntemlerinin Gözden Geçirilmesi. Breeze R.G., Budowle B., Schutzer S.E. Microbial forensics. Anđ Ö. (Çeviri Ed). Adli Mikrobiyoloji, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2011:233- 247.
61. http://www.dermatoz.org/2017/1/dermatoz17081d2_Dermatoz.pdf.
62. Savage D.C. Microbial ecology of the gastrointestinal tract, *Annu Rev Microbiol.* 1977;31:107-33.
63. Turnbaugh P.J., Ley R.E., Hamady M, Fraser-Liggett C., Knight R, Gordon J.I. The Human Microbiome Project. VOL 449, 804-810. *NATURE.* 2007.
64. Aagaard K, Petrosino J, Keitel W, Watson M, Katancik J, Garcia N, et al. The Human Microbiome Project Strategy for Comprehensive sampling the Human Microbiome and Why it Matters. *FASEB J.* 2013 Mar; 27(3):1012-1022.
65. González A, Vázquez-Baeza Y, Knight R . Snap Shot: The Human Microbiome. *Cell*, Jul 31;158(3):690-690.e1. doi: 10.1016/j.cell.2014.07.019.
66. Lloyd-Price J., Mahurkar A., Rahnavard G., Crabtree J., Orvis J., A. Hall B., et al. Strains, functions and dynamics in the expanded Human Microbiome Project. *Nature* 569, 641-648 (2019).

67. Jawetz E., Melnick J.L., Adelberg E.A. Medical Microbiology, *Sultan Qaboos Univ Med J.* 2007 Dec; 7(3): 273–275.
68. Nord C.E., Heimdahl A. Cardiovascular infections bacterial endocarditis of oral origin. *J Clin. Periodontol*, 1990; 17:494-496.
69. Bozaslan B.S., Ağız Florasındaki Streptokokların Adli Bilimlerde Kimliklendirme Açısından Araştırılması. İstanbul Üniversitesi. Adli Tıp Enstitüsü. [Yüksek Lisans Tezi]. 2016.
70. Baron S., Medical Microbiology. University of Texas Medical Branch at Galveston. 4th edition, 1996.
71. Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science*. 2013. 6;341(6150):1241214.
72. <https://docplayer.biz.tr/290268231-insan-mikrobiyom-projesi-prof-dr-tanil-kocagoz.html>. Erişim tarihi: 23.11.1018
73. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. et al., The Human Microbiome Project. VOL 449, 804-810. *NATURE*. 2007.
74. Waldor MK., et al. Where Next for Microbiome Research? *PLoS Biol.* 2015; 13(1): e1002050.
75. Rosenthal, M., Goldberg, D., Aiello, A., Larson, E., Foxman, B., Skin microbiota: Microbial community structure and its potential association with health and disease. *Infection, Genetics and Evolution*. Vol. 11, 2011; 839-848.
76. Gao, Z., Perez-Perez, G.I., Chen, Y., Blaser M.J., Quantitation of Major Human Cutaneous Bacterial and Fungal Populations. *Journal of Clinical Microbiology*. Vol. 48, No. 10, 2010; 3575-3581.
77. Ubeda, C., Pamer, E.G., Antibiotics, microbiota, and immune defense. Ubeda C, Pamer EG. *Trends in Immunology*. Vol. 33, No. 9, 2012; 459-466. Doi. 10.1016/J.it.2012.05.003
78. Rebollar E.A., Using “Omics” and Integrated Multi-Omics Approaches to Guide Probiotic Selection to Mitigate Chytridiomycosis and Other Emerging Infectious Diseases, Review Article, *Front. Microbiol.* 2016. | <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00068>.
79. <https://docplayer.biz.tr/37370605-Cilt-mikrobiyotası-prof-dr-nılgün-solak-bulent-ecevit-u-tip-fak-dermatoloji-ad.html>. Erişim tarihi: 11.09.2018

80. Turnbaugh P.J., et al., The Human Microbiome Project. *NATURE*, 2007;449(7164):804-10.
81. Lazarevic V., Whiteson K., Hernandez D., Francois P., Schrenzel J. Study of inter- and intra-individual variations in the salivary microbiota, *BMC Genomics*, 2010;11:523.
82. Gupta V.K., et al. Geography, Ethnicity or Subsistence-Specific Variations in Human Microbiome Composition and Diversity. *Front Microbiol.* 2017; 23;8:1162.
83. Jeffreys A.J. Genetic Fingerprinting. *Nat.Med.* 2005; 11:1035-1039.
84. C Zapka, J Leff, J Henley, J Tittl, E De Nardo, M Butler, et al. Comparison of Standard Culture-Based Method to Culture-Independent Method for Evaluation of Hygiene Effects on the Hand Microbiome. *MBio.* 2017; Mar 28;8(2).
85. Wilkins D., Leung M.H.Y., Lee P.K.H. Microbiota fingerprints lose individually identifying features over time. *Microbiome.* 2017 Jan 9;5(1):1.
86. Fierer N., Lauber C.L., Zhou N., McDonald D., Costello E.K., Knight R. Forensic identification using skin bacterial communities. *Proc Natl Acad Sci.* 2010;107:6477–81.
87. Wood M., Gibbons S.M., Lax S., Eshoo-Anton T.W., Owens S.M., Kennedy S., et al. Athletic equipment microbiota are shaped by interactions with human skin. *Microbiome.* 2015;3:25.
88. Lax S, Smith DP, Hampton-Marcell J, Owens SM, Handley KM, Scott NM, et al. Longitudinal analysis of microbial interaction between humans and the indoor environment. *Science.* 2014;345:1048–52.
89. Wilkins D, Leung MH, Lee PKh. Indoor air bacterial communities in Hong Kong households assemble independently of occupant skin microbiomes. *Environ Microbiol.* 2016; 18:1754–63.
90. Altındış M., İnsan Mikrobiyom Projesi ve Mikrobiyotanın Geleceği, Mikrobiyota Çalıştayı Sonuç Bildirgesi, Sakarya Üniversitesi, 2017.
91. Lavigne J.P., Sotto A., Dunyach-Remy C., Lipsky B.A., New molecular techniques to study the skin microbiota of diabetic foot ulcers. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2015 Jan 1; 4(1): 38–49.
92. Morgan X.C., Huttenhower C. Chapter 12: Human microbiome analysis. *PLoS Comput Biol* 2012; 8:e1002808.

93. Lane D.J., Pace B., Olsen G.J., Stahl D.A., Sogin M.L., Pace N.R. Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analyses. *Proc Natl Acad Sci.*1985;82: 6955-6959.
94. Kong H.H. Skin microbiome: genomics-based insights into the diversity and role of skin microbes. *Trends Mol Med.* 2011;17: 320-328.
95. Grice E.A., Segre J.A., The human microbiome: our second genome. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2012;13: 151- 170.
96. Morgan X.C., Huttenhower C. Chapter 12: Human Microbiome Analysis. *PLoS Comput Biol.*2012;8: e1002808.
97. Kong H.H., Segre J.A. Skin microbiome: looking back to move forward. *J Invest Dermatol.* 2012;132: 933-939.
98. Çoğulu Ö., Tıbbi Genetik Laboratuvar ve Klinik, Tıbbi Genetikte Kullanılan Yöntemler, Bölüm 2, Nobel Tıp Kitabevi, 2017.
99. Maslow J.N., Mulligan M.E., Arbeit R.D. Molecular epidemiology: application of contemporary techniques to the typing of microorganisms. *Clin Infect Dis.* Review. 1993;Aug;17(2):153-62; quiz 163-4.
100. Jordens J.Z. Genomic DNA digestion and ribotyping. *Methods Mol Med.* 1998;15:17-31. doi: 10.1385/0-89603-498-4:17.
101. Kaufman M.E. Pulsed-Field Gel Electrophoresis From: Methods in Molecular Medicine Vol. 15: Molecular Bacteriology: Protocols and Clinical Applications Ed: Woodford and A.P. Johnson. Humana Press Inc. Totowa, NJ. 1998, 33-50.
102. Piccirillo A., Giacomelli M., Salata C., Bettanello S., De Canale E., Palù G. Multilocus sequence typing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from humans and chickens in North-Eastern Italy. *New Microbiol.* 2014; 37(4): 557-62.
103. Achtman M., Wain J, Weill FX, Nair S, Zhou Z, Sangal V. et al. Multilocus sequence typing as a replacement for serotyping in *Salmonella enterica*. *PLoS Pathogens.* 2012; 8(6): e1002776.
104. Michael T.M., John M.M. Brock Biology of Microorganisms. Thirteenth Edition. Pearson Education. Inc. Publishing as Prentice Hall, 2012.
105. Singh R.K., Singh R., Guoyou Ye, Selvi A. and Rao G.P. Molecular Plant Breeding: Principle, Method and Application Eds: Studium Press LLC, Texas, USA, 2008, pp. 1-77
106. Brown T.A. Genomes. Second Edition. London: *Taylor and Francis*. Tamaki K., Jeffreys A. 2005.

107. https://en.wikipedia.org/wiki/sanger_qsequencing#/media/File:Sanger-sequencing.svg. Erişim tarihi: 19.05.2014
108. Tamaki K, Jeffreys A.J. Human tandem repeat sequences in forensic DNA typing. *Legal Medicine*, 7. 244-250, 2005
109. https://www3.appliedbiosystems.com/cms/groups/mcb_support/documents/generaldocuments/cms_041003.pdf.
110. Murphy K.M., Berg K.D., Eshleman J.R. Sequencing of genomic DNA by combined amplification and cycle sequencing reaction. *Clin Chem*. 2005;51(1):35-9.
111. Düz M.B. Herediter Spastik Paraparezi Tanısı Alan Hastalarda Genetik Etiyolojinin Araştırılması, [Uzmanlık Tezi], İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, 2017.
112. Kıran F. ve ark., Laktik Asit Bakterilerinin (LAB) İdentifikasyonunda/ Tiplendirmesinde Kullanılan Moleküler Yöntemler, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 2011;27(1): 62-74.
113. Ehrmann, M.A., Vogel R.F., Molecular taxonomy and genetics of sourdough lactic acid bacteria, *Food Sci. and Technol*. 2005;20, 1-12.
114. Toth I.K. et al., Rapid identification and differentiation of the soft rot erwinias by 16S-23S Intergenic transcribed spacer-PCR and restriction fragment length polymorphism analyses, *Appl. and Environ. Microbiol.*, 2001;67, 4070-4076.
115. Leblond-Bourget N., Philippe H., Mangin I., Decaris B. 16S rRNA and 16S to 23S internal transcribed spacer sequence analyses reveal inter and intraspecific *Bifidobacterium* phylogeny. *Int. J. of Sys. Bacteriol*. 1996:102-111.
116. Oliver G.R., Hart S.N., Klee E.W. Bioinformatics for clinical next generation sequencing. *Clin Chem*. 2015;61(1):124-35.
117. Williams A.G., Zeggini E. The effect of next-generation sequencing technology on complex trait research. *Eur J Clin Invest*. 2011;41(5):561-7.
118. Li H., Handsaker B., Wysoker A., Fennell T., Ruan J., Homer N. et al. The Sequence Alignment/Map format and SAM tools. *Bioinformatics*. 2009;25(16):2078-9.
119. Dolled-Filhart M.P., Lee M, Ou-Yang CW, Haraksingh RR, Lin JC. Computational and bioinformatics frameworks for next-generation whole exome and genome sequencing. *ScientificWorldJournal*. 2013;2013:730210.
120. Saitou N., İmanishi T. Relative efficiens of the Fitch-Margoliash, Maximum Parsimony, Maximum-Likelihood, Minimum-Evolution and Neighbour- Joining

- methods of phylogenetic tree construction in obtaining the correct tree. *Mol. Biol Evol.* 1989; 6, 514-525.
121. Mount, DW., Bioinformatics. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York., Chapter 3. Alignment of pairs of sequences; 2001;52-137.
122. Delipoyraz S. Türkiye’de Yetişen *Artemisia taurica* Willd (Asteraceae) Popülasyonlarının Bazı Moleküler Belirteçler Kullanılarak Filogenetik Yönden Araştırılması. [Y.L Tezi], 2018.
123. Saitou, N., Nei, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstruction phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution.* 1987;406- 425.
124. Freeman S., Herron J.C., Çıplak B., Başıbüyük H.H., Karaytuğ S., Gündüz, 1999, Evrimsel Analiz, Palme Yayıncılık, Ankara.
125. Felsenstein J., Estimation of hominoid phylogeny from a DNA hybridization data set. *Molecular Evolution.* 1987;26,123-31.
126. Salemi M., Vandamme A.M. The Phylogenetic Handbook. A Practical Approach to DNA and Protein Phylogeny. Cambridge University Press. 2003.
127. Peerayeh S.N., Behmanesh M., Moghadas A.J. *Staphylococcus epidermidis*, Clonality and Accessory Gene Regulator Diversity in Clinical Isolates, *Arch Clin Infect Dis.* 2018 August; 13(4):e62833.
128. Francois P., Hochmann A., Huyghe A., Bonetti E.J., Renzi G., Harbarth S., et al. Rapid and high-throughput genotyping of *Staphylococcus epidermidis* isolates by automated multilocus variable-number of tandem repeats: A tool for real-time epidemiology, Francois P., et al. *Journal of Microbiological Methods.* 72 (2008) 296–305.
129. Kaygısız M. Adli Bilimler. 2. Baskı. Seçkin Yayıncılık San. ve Tic. A.Ş. Ankara, 2005.
130. https://www.istabip.org.tr/dosyalar/adli_tip.pdf Erişim tarihi: 28.02.2018
131. Max M.H. Forensic Science, Modern Methods of Solving Crime, Virginia. 2007.
132. Toothman M.H, Kester K.M. Champagne J., Cruz T. Scott D.W.S, Brown B.L. Characterization of human DNA in environmental samples, *Forensic Sci Int*, 2008;178:7–15.
133. Metcalf J.L., Zhenjiang Z.Xu, Bouslimani A., Dorrestein P., Carter D.O., Knight R., Microbiome Tools for Forensic Science. *Cell Press.* Vol. 35, No.9; 2017.

- 134.Oliveira M., Microbial forensics: new breakthroughs and future prospects, *Appl Microbiol Biotechnol.* 2018;102:10377–10391.
- 135.Breeze R., Budowle B., Schutzer S. Adli Mikrobiyoloji, Çevr: Prof..Dr. Özdem Anđ, Ankara, Nobel Tıp, 2011.
- 136.Leake S.L. The salivary microbiome for differentiating individuals: proof of principle, *Microbes Infect.* 2016 Jun;18(6):399-405.
- 137.Metcalf J.L., Estimating the postmortem interval using microbes: Knowledge gaps and a path to technology adoption, *Forensic Science International: Genetics.* 38 (2019) 211–218.
- 138.Hanssen EN, Avershina E, Rudi K, Gill P, Snipen L. Body fluid prediction from microbial patterns for forensic application. *Forensic Science International: Genetics.* 30 (2017) 10–17.
- 139.Schommer N.N., Gallo R.L. Structure and function of the human skin microbiome, *Trends in Microbiology*, December 2013, Vol. 21, No.12.
- 140.Schmede S.E., Targeted sequencing of clade-specific markers from skin microbiomes for forensic human identification, *Forensic Science International: Genetics.* 32 (2018) 50–61.
- 141.Fierer N., Lauber C.L., Zhou N., McDonald D., Costello E.K., Forensic identification using skin bacterial communities, April 6, 2010, *PNAS.* vol. 107, 6477–648.
- 142.Schmedes SE., Woerner A.E., Budowle B. Forensic Human Identification Using Skin Microbiomes, *Applied and Environmental Microbiology.* Volume 83 Issue 22 e01672-17, November 2017.
- 143.Mathieu A, Delmont T.O., Vogel T.M., Robe P., Nalin R., Simonet P., Life on Human Surfaces: Skin Metagenomics. June 2013. Volume8, Issue 6, e65288; *PLOS ONE.*
- 144.Edmonds-Wilson SL, Nurinova NI, Zapka CA, Fierer N, Wilson M. Review of human hand microbiome research, *Journal of Dermatological Science.* 80 (2015) 3–12.
- 145.Byrd A.L., Belkaid Y., Segre J.A. The human skin microbiome, *Nature Reviews, Microbiology*, doi:10.1038/nrmicro.2017.157 Published online 15 Jan 2018.

EK-1 ETİK KURUL KARARI

Tarih ve Sayı: 14/11/2017-427123



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dekanlığı



Sayı :59491012-604.01.02-
Konu :oktora Öğrencisi M.ScSeda
Salman YILMAZ'ın etik kurul
kararı A-03

ADLI TIP ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

İlgi : 20.09.2017 tarih, 86669574-302.14.06--346298 sayılı yazı

Enstitünüz Fen Bilimleri öğretim üyesi **Prof.Dr.Gökhan AYGÜN**'ün danışmanlığında **Doktora Öğrencisi M.ScSeda Salman YILMAZ**'ın yürütücülüğünde **Yard.Doç.Dr.Hüseyin ÇAKAN** ve **Uzm.Dr.Mert KUŞKUCU**'nun yardımcılıklarında "**El Mikrobiyotasının Kişilerin Tanımlanmasında Kullanılmasını Sağlayacak Yeni Bir Metodun Geliştirilmesi**" başlıklı Doktora Tezi çalışma hakkında ilgi yazınız ve ekleri **07 Kasım 2017** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup;Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Başkan

e-İmzalı
Prof. Dr. Feray SAVRUN
Dekan a.
Dekan Yardımcısı

NOT: Yönetmelik gereği Sonuç Raporunun ve Bilimsel Araştırma Projeleri Desteği onay belgesinin Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna iletilmesi gerekmektedir.

EK :
1 dosya elden teslim edilecektir

EK-2 GÖNÜLLÜ ONAM FORMU



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPASA TIP FAKÜLTESİ



**“El Mikrobiyotasının Kişilerin Tanımlanmasında Kullanılmasını Sağlayacak Yeni Bir
Metodun Geliştirilmesi”**

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

1. Davet edildiğiniz çalışma “El Mikrobiyotasının Kişilerin Tanımlanmasında Kullanılmasını Sağlayacak Yeni Bir Metodun Geliştirilmesi” başlıklı akademik amaçlı projedir.
2. Çalışmamızda, erişkin ve çalışmaya gönüllü olarak katılan bireylere ait elden ve yüzeye temas eden el mikrobiyota (Mikrobiyota; kişinin yaşam şekli, bulunduğu coğrafya ya da beslenme şekli ile farklılık gösteren mikroorganizmaların, bu kişiye özgü bir yapı oluşturmasıdır.) sürüntü örnekleri elde edilecektir. Mikrobiyota değişimleri konusunda bilgi edinmek için moleküler teknikler ve bilgisayar programların kullanılmasıyla bireyler arası farkın araştırılması amaçlanmaktadır.
3. El mikrobiyotası ile ilgili çalışmalar olmakla birlikte, mikrobiyal genom yöntemlerin rutin uygulamaya geçmesini sağlayacak bu çalışma, adli bilimlerde suç olaylarının aydınlatmasına katkı sağlayacaktır.
4. Kullanılan yöntemlere göre çalışmanın, bu çalışmanın daha kısa sürede sonuçlanması, düşük maliyetli, kolay uygulanabilir ve tekrarlanabilir olması en önemli avantajlarıdır.
5. Ayrıca bu konu ile ilgili yapaçığımız çalışmanın ucuz, kolay ve ayırım yapabilen bir yöntem olarak literatürde ilk defa gösterilecek olması ve gelecek çalışmalara da katkı sağlanmış olacaktır.
6. Araştırma esnasında alınan sürüntü örneklerinden mikroorganizmaya ait DNA eldesi yapılacak ve ile ilgili hedef bölgelerde değişen diziler araştırılmak üzere laboratuvarımızda çalışılacaktır. Ayrıca elde edilen örnekler uygun koşullarda kimliğiniz gizli kalmak üzere saklanacaktır. Sizden alınacak sürüntü örneği ve takibinde yapılacak işlemlerin tümü yurt içinde gerçekleştirilecektir.
7. Gönüllü olarak sizin araştırma üzerinde herhangi bir sorumluluğunuz bulunmamaktadır.

8. On iki ay sürmesi planlanan bu araştırma çalışmasına katılmak için gönüllülük esastır ve çalışmaya erişkin bireylerin katılması hedeflenmiştir.
9. Çalışmada öncelikle, birelerin ellerinden elde edilen sürüntü örneklerine sıvı besiyerinde ön zenginleştirme işlemi uygulanacaktır. Sonraki aşamada bakterinin DNA izolasyonu yapılarak, temel işlem olarak ‘Ribotiplendirme’ (Ribotiplendirme; bakteriyi tanımlama ve karakterizasyonunu belirlemede kullanılan filogenetik analiz) moleküler tekniği uygulanacaktır. Bireye özel mikrobiyota profilleri ayrımı sağlandığında daha sonraki süreçte dokunulan yüzeylerde bu profiller kullanılarak bireylerin yüzey örneklerindeki mikrobiyotalarının incelenmesi ile bireyin tanımlanması/dışlanması aşaması değerlendirilecektir. Bu aşamada kumaş, kağıt ve plastik olarak birey başına üç farklı örnek kullanılacaktır.
10. Araştırmaya katılmayı kabul etmeniz durumunda; yapılacak moleküler testin getirebileceği herhangi bir riski bulunmamaktadır. Sizin örneğinize ait bilgiler ve sonuçlar kesinlikle gizli kalacaktır. Ayrıca, bulgularımız talep ettiğiniz taktirde size bildirebilecektir.
11. Bu çalışma, kısa dönemde size bir fayda ve klinik açıdan yönlendirme sağlamayacaktır. Mikrobiyal genom yöntemlerin rutin uygulamaya geçmesini sağlayarak adli bilimlerde suç olaylarının aydınlatmasına katkı sağlayacaktır.
12. Araştırmada kullanılacak olan yöntem diğer yöntemlere göre daha kısa sürede sonuçlanması, düşük maliyetli, kolay uygulanabilir ve tekrarlanabilir olması en önemli avantajlarından biridir.
13. Gönüllü olarak sizin araştırma üzerinde herhangi bir sorumluluğunuz bulunmamaktadır. Araştırma boyunca sizden herhangi bir maddi katkı talebi olmayacaktır. Sizin için herhangi bir rahatsızlık veya risk oluşturmayacak bu çalışma, size bir fayda sağlamayacaktır. Ancak çalışma, rutin uygulama kolaylığı ve adli bilimlerde suç olaylarının aydınlatılmasında daha kısa sürede ve düşük maliyette fayda sağlayacaktır.
14. Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluğunuz yoktur, ayrıca size de maddi katkı sağlamayacaktır. Araştırmada tarafınıza, ulaşım veya yemek gibi masraflar için de bir ödeme yapılmayacaktır. Bağlı bulunduğunuz Sosyal Güvenlik Kurumundan (SGK) herhangi bir ücret alınmayacaktır.
15. Araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlı olup, araştırmada yer almayı da reddedebilirsiniz. Reddetmeniz halinde yararınıza engel ya da cezai bir durum ortaya çıkmayacaktır.
16. Araştırmanın yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirsiniz. Ancak, zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekildiğinizi önceden bildirmeniz uygun olmaktadır.

17. Kimliğinizi ortaya koyacak kayıtlar da gizli tutulacaktır. İzleyiciler, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar size ait tıbbi bilgilere ulaşılabilir, ancak bu bilgiler gizli tutulacaktır; araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi kimliğiniz gizli kalacaktır.
18. Araştırma esnasında sizi ilgilendirecek bir bilgi söz konusu olduğunda, siz veya yasal temsilciniz zamanında bilgilendirilecektir.
19. Araştırma hakkında veya araştırmayla ilgili herhangi bir olay hakkında veya ek bilgi almak için; 0212 414 30 00 / 22996 veya 0544 833 64 30'dan ulaşabilirsiniz.
20. Araştırmada uygulanacak sizden herhangi başka bir girişim olmayacaktır.
21. 'Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu' gönüllü olan sizin veya yasal temsilcinizin yasal haklarını ortadan kaldıracak bir hüküm veya ifade içermemektedir. Ayrıca araştırmacıyı, kurumu veya bunların temsilcilerini kendi ihmallerinden kaynaklanan herhangi bir yükümlülükten kurtaracak hüküm veya ifade taşımamaktadır.

Bilgilendirilmiş gönüllü olur formundaki tüm açıklamaları okudum, dinledim, anladım, istediğim soruları sordum ve cevapları aldım. Eğer bu araştırmaya katılırsam araştırmacı ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimalla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum ve onaylıyorum. Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır. Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun şahsıma herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Gönüllü Bireyin Adı Soyadı	İmzası	Tarih/...../.....
Açıklama Yapan Araştırmacının Adı Soyadı	İmzası	Tarih/...../.....
Gerekliyse Tanık Olan Kişinin Adı Soyadı	İmzası	Tarih/...../.....
Gerekliyse Yasal Temsilcinin Adı Soyadı	İmzası	Tarih/...../.....

Bu araştırma kapsamında benden elde edilen sürüntü örneğinden izole edilecek DNA/RNA moleküllerinin ve tarafıma ait bilgilerin;

İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.

Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum.

Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.



ÖZGEÇMİŞ

A. KİŞİSEL BİLGİLER

Adı soyadı: Seda Salman Yılmaz

Doğum tarihi: 25.05.1981

Yabancı dil bilgisi: İngilizce

Görev yeri: İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik A.D.

E-posta adresi: salmanseda@gmail.com

Telefon: 0544 833 64 30

B. EĞİTİM BİLGİLERİ

Doktora- Üniversite: İ.Ü.C. Adli Tıp Enstitüsü

Tez konusu: El Mikrobiyotasının Kişilerin Tanımlanmasında Kullanılmasını Sağlayacak Yeni Bir Metodun Geliştirilmesi

Mezuniyet tarihini lütfen yıl olarak belirtiniz: 2019

Yüksek lisans- Üniversite: İ.Ü.DETAE Genetik A.D

Tez konusu: Skuamoz Hücreli Larenks Kanserli Hastaların Periferik Kanında Dolaşan

Mikrona'ların Profilinin Oluşturulması

Mezuniyet tarihini lütfen yıl olarak belirtiniz: 2014

Varsa, akademik ünvanları lütfen belirtiniz: M.Sc.

C. İŞ TECRÜBESİNE AİT BİLGİLER

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik A.D.: 2009 -

D. KLİNİK ARAŞTIRMALARLA İLGİLİ GENEL BİLGİLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler (SSCI, SCI-E, AHCI, IM, DI, EI ya da CMCI Kapsamına Giren Dergilerde Yayımlananlar):

1. Mir-221 As A Pre- And Postoperative Plasma Biomarker For Larynx Cancer Patients. Yılmaz Salman S, Guzel E, Karatas Of, Yılmaz M, Creighton Cj, Ozen M; The Laryngoscope. 2015 Dec;125(12):E377-81.
2. Revealling the function of a novel splicing mutation in RAB3GAP1 gene literature review in Martsof syndrome, Koparır A, Karatas OF, Yılmaz Salman S, Samil Sagiroglu, Yuksel A, Ozen M; *American Journal of Medical Genetic*, Revised and accepted: 17 January 2019 DOI: 10.1002/ajmg.a.6106
3. A Novel Mutation Of The Birt-Hogg-Dube' Gene In Patients With Recurrent Pneumothorax, Genc Yavuz B, Guzel E, Yılmaz Salman S (*European Journal Of Human Genetics, Under Revision*)

Poster bildirimi

1. The Role of Glutathione S-Transferase M1, T1 and P1 Gene Polymorphisms in Susceptibility to Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia
2. B Batar, M Guven, T Celkan, N ozdemir, S Salman, E Yosunkaya, M Ozen; 9th National Medical Genetics Congress of Turkish Medical Genetic Society, 2010
3. Mir-221 as a Pre- and Postoperative Plasma Biomarker for Larynx Cancer Patients Yilmaz Salman S, Guzel E, Karatas OF, Yilmaz M, Creighton CJ, Ozen M; The European Society of Human Genetics, 2015
4. Mir-221 as a Pre- and Postoperative Plasma Biomarker for Larynx Cancer Patients Yilmaz Salman S, Guzel E, Karatas OF, Yilmaz M, Creighton CJ, Ozen M; Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, 2015.
5. Yeni Nesil Dizilemede İş Akışı ve Adli Genetikte Kullanımı Yilmaz Salman S, Filoglu G, Unsal T; 1st National Forensic Science and Pathology Congress, 2016
6. Epigenetic Alterations in Glioma; 5th World Congress on Epigenetics and chromosome during, Demircan Tan B, Yucel Burcu, Altindag S, Salman Yilmaz S, Yildirim 15-16 November, 2018
7. MGMT, SOCS3, RASSF1 ve PTEN mutasyonlarının prostat kanseri ile ilişkisi, TURAN T, Demircan Tan B, Yucel Burcu, Altindag S, Salman Yilmaz S, Yildirim A; 8th Eurasian Uro-oncology Congress Special Edition, 2018
8. Whole Exome Sequence Analyses In A Consanguineous Family With Affected Dizygotic Twins Reveal A Novel Sepn1 Variant Associated With Multiminicore Disease Fatma Sarı Tunel, Feyza Nur Tuncer, Ayşe Evrim Kömürcü-Bayrak, Seda Salman Yılmaz, Piraye Oflazer, Burçak Vural; 13th Balkan Congress of Human Genetics, April 17-20, 2019.

Proje

214S371 numaralı ve "Şizofreni Hastalarında Elektrokonvulzif Tedavi Öncesi ve Sonrası MikroRNA Düzeylerinin Değerlendirilmesi" başlıklı proje TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

Kongreler – Sempozyumlar

- Gene tedavisi Sempozyumu, Yeditepe Üniversitesi, Kasım 2007
- Uluslararası Moleküler Tıp Kongresi, Harbiye Askeri Kültür Müzesi, 05-09 Mayıs 2009
- 9. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, Conrad Otel, 01-05 Aralık 2010
- 11. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, İ.Ü Fen–Edebiyat Fakültesi Cemil Bilsel Kongre Merkezi, 24-27 Eylül 2014

Kurs – Sertifikalar

- Kanser Genetiği/ Tanı ve Tedavinin Planlanmasında Moleküler Tanının Yeri
- Tıbbi Genetikte Yenilikler
- Laboratuvar Akreditasyonu ve Genetik Testlerin Kalite Kontrolü
- ‘Next Generation Sequencing’ Kursu
- MLPA Çalıştay
- ‘Applied Genomics in the Clinic’ Çalıştay
- Uygulamalı Flow Sitometri Eğitimi