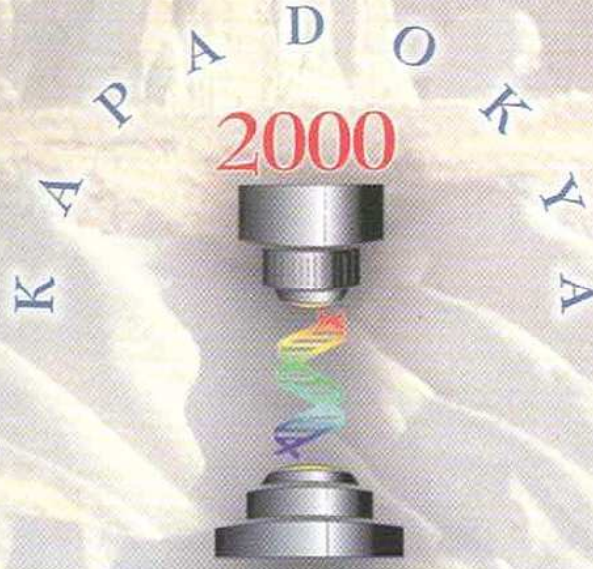


ANKARA MİKROBİYOLOJİ DERNEĞİ



BİRİNCİ ULUSAL  
MOLEKÜLER VE TANISAL  
MİKROBİYOLOJİ KONGRESİ

24-27 NİSAN 2000  
KAPADOKYA

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı



**BİRİNCİ ULUSAL MOLEKÜLER VE TANISAL  
MİKROBİYOLOJİ KONGRESİ**

**24-27 NİSAN 2000**

**KAPADOKYA**

**PROGRAM VE ÖZET KİTABI**

**Düzenleyenler:**

**Ankara Mikrobiyoloji Derneği**

**ve**

**Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı**

### **Kongre Başkanı**

Prof. Dr. Ayfer Günalp

### **Genel Sekreter**

Doç. Dr. Tanıl Kocagöz

### **Düzenleme Kurulu**

Prof. Dr. Ayfer Günalp  
Prof. Dr. Şemsettin Ustaçelebi  
Doç. Dr. Tanıl Kocagöz  
Doç. Dr. Burçin Şener  
Doç. Dr. Dürdal Us  
Yrd. Doç. Dr. Ahmet Pınar

### **Bilimsel Danışma Kurulu**

Prof. Dr. Özdem Anğ  
Prof. Dr. Selim Badur  
Prof. Dr. Erdoğan Berkman  
Prof. Dr. Altınay Bilgiç  
Prof. Dr. Nilgün Daldal  
Prof. Dr. Rıza Durmaz  
Prof. Dr. Ekrem Gülmezoğlu  
Prof. Dr. Ayfer Günalp  
Prof. Dr. Fatih Köksal  
Prof. Dr. Seyyal Rota

Prof. Dr. Okan Töre  
Prof. Dr. Kurtuluş Töreci  
Prof. Dr. Emel Tümbay  
Prof. Dr. Şemsettin Ustaçelebi  
Prof. Dr. Tümer Vural  
Prof. Dr. Nuran Yuluğ  
Doç. Dr. Hakan Abacıoğlu  
Doç. Dr. Ali Osman Kılıç  
Doç. Dr. Tanıl Kocagöz  
Doç. Dr. Ayhan Kubar

## Başlarken

Yeni bir yüzyıl, yeni bir binyıl, yeni bir çağ, yeni bir kongre...  
Biyoteknoloji: Dünya'nın geleceği, Türkiye'nin geleceği, insanlığın  
umudu... Dörtmilyar yıllık yaşamın, dörtbin yıllık bilimin biriktirdiği,  
umut tohumları...

Bugün bir bir ekip, hep birlikte yeşerteceğimiz esenlik fidanları,  
yarının mutluluk çiçekleri...

Bu yola gönül koymuş ey bilim insanları...

Gelin birlikte bu yolda koşalım ve tarihin en onurlu yapısına en değerli  
taşları ekleyelim.

Açlık, ince hastalık, sıtma, trahom, AIDS'e  
kahkahalarla kırılarak güldüğümüz günlerin özlemiyle...

Tanıl Kocagöz  
Kongre Genel Sekreteri



**GENEL BİLGİLER:****Kayıt ve Danışma Masası:**

Kayıtlar ve danışma hizmetleri için sempozyum merkezinde kayıt kabul masası bulunacak ve 24 Nisan 2000 tarihinde saat 09.00 da başlayacaktır. Kayıt ücretine kongre çantası, kahve ikramları, öğle yemeği(2), gala yemeği ve kokteyl ve 26 Nisan 2000 Çarşamba günü yapılacak olan Kapadokya çevre gezisi dahildir. Kongre Sekreterliği, ön kayıt yaptırmadan kongre gününde kayıt yaptıran katılımcılar için kongre çantası ve özet kitabını garanti edememektedir.

**Yaka Kartları:**

Tüm katılımcı ve refakatçılara yaka kartı dağıtılacaktır. Yaka kartı olmayan misafirler kongre aktivitelerine, öğle yemekleri, kahve ikramları, kokteyl ve gala yemeğine kesinlikle katılamayacaklardır. Gala yemeği için davetiyelerin salona girerken görevliye verilmesi gerekmektedir. Yaka kartlarını kaybeden veya katılım bedelini ödemiş olan misafirler yukarıda adı geçen hizmetlerden ancak bedelini kayıt deskine ödemek suretiyle yararlanabileceklerdir.

**Kongre Dili:**

Türkçe'dir. Yabancı dilde yapılacak konuşmalar için simultane tercüme olanağı sağlanacaktır.

**Toplantılar:**

Bir salonda yapılacaktır. Kongremiz Türk Tabipler Birliği tarafından kredilendirilecektir. Bunun için kayıt deskinde bulunan TTB formunun doktor katılımcılar tarafından imzalanması gerekmektedir.

**Sözlü Sunular:**

Kongrede sözlü sunu yapacak olan katılımcılar sunularından en az 2 saat öncesinde slaytlarını veya diğer sunu malzemelerini slayt odasına teslim etmeleri gerekmektedir. Slayt odasında sunuların önceden gözden geçirilmesi için gerekli olanaklar sunulacaktır.



### **Posterler:**

Posterlerden A kategorisinde olanlar 25 Nisan 2000 Salı günü, posterlerden B kategorisinde olanlar ise 26 Nisan 2000 Çarşamba günü olmak üzere saat 8.30 da poster odasında, yazarı tarafından belirlenen yerlere yerleştirilecek ve yine aynı gün en geç 17.30 da kaldırılacaktır. Bildiri sahibinin poster başında hazır bulunma saati saat 12.00 – 13.00 arasında olacaktır. Bilim Kurulu tarafından kabul edilip de kongrede sunulmayan poster sahipleri bundan sonraki iki kongrede poster sunamayacaktır.

### **Kapadokya Turu:**

Kapadokya tur programı 26 Nisan 2000 Çarşamba günü 17.15 de başlayacak ve 19.30 da sona erecektir. Kapadokya turu Ankara Mikrobiyoloji Derneği tarafından katılımcılarımıza bir bedel karşılığı olmaksızın sağlanmıştır. Organizasyonun aksamaması bakımından, tura katılmak isteyen misafirlerin en geç 24 Nisan 2000 saat 17.00 'ye kadar isimlerini kayıt deskine yazdırmaları gerekmektedir.

### **Kongre Oteli:**

Yaka kartı olan katılımcıların tümü açılış kokteyli, gala yemeği, kahve molaları ve öğle yemeklerini (sandviç tabağı) kongre otelinde alacaklardır.

Konaklamalar 24 – 27 Nisan 2000 tarihleri arasında 3 günlük paket program şeklinde olup yarım pansiyon esasından yapılacaktır. Bunun dışında talepler için kayıt deskine müracaat etmek gerekmektedir. Otelde konaklaması olan katılımcılar otelin havuzundan ve jimnastik salonundan ücretsiz; sauna, masaj gibi servislerden ise 15 – 25 usd. bedel karşılığı faydalanabilirler. Otelin check-out saati en geç 13.00 de yapılacak, aksi halde otel konaklayan misafirden bir günlük ücret alma hakkına sahip olacaktır. Paket programda tariflenen servisler haricindeki tüm servisler , oteldeki içki ve odalarda bulunan mini bar kullanımı tamamen otelde konaklayan misafirlerin ekstrası olarak kabul edilecek ve bedeli misafirler tarafından otele ödenecektir. Bu konuda organizasyon firmasının herhangi bir sorumluluğu olmayacaktır. Otel, yemeklerde açık su hizmetini ücretsiz yapacaktır. Gala yemeğinde 2 kadeh içkiden sonrası menüye dahil değildir.



**BİLİMSEL PROGRAM:**

**24 Nisan 2000 - Pazartesi**

- 09.00 - 16.00 Kongre Kayıt
- 16.00 - 16.15 Açılış Konuşması : **Prof. Dr. Ayfer Günalp**
- 16.15 - 16.55 Oturum Başkanı : **Doç. Dr. Tanıl Kocagöz**
- Açılış oturumu: Moleküler biyoloji ve biyoteknolojinin çağımıza etkisi ve beklentilerimiz. **Prof. Dr. Selim Badur**
- 17.00 - 17.40 **Uydu Sempozyum (Roche)**
- 18.00 - 19.00 Açılış Kokteyli

**25 Nisan 2000 - Salı**

- 09.00 - 10.40 Oturum Başkanı : **Prof. Dr. Altınay Bilgiç**
- Moleküler tanı ve araştırma yöntemleri:
- "Blotting" yöntemleri: Southernblot, Northernblot, Westernblot, ELISA, Immunfloresans. **Prof. Dr. Fatih Köksal**
- Nükleik asit amplifikasyon yöntemleri. PCR, TMA, SDA, LCR. **Doç. Dr. Tanıl Kocagöz**
- Moleküler klonlama. **Doç. Dr. Ayhan Kubar**
- In vitro indüklenen streptokokkal virulans genlerinin identifikasyonu.  
**Yrd. Doç. Dr. Faruk Aydın**
- 10.40 - 11.10 Kahve Molası

- 11.10 - 12.00 Oturum Başkanı: **Prof. Dr. O. Şadi Yenen**  
Moleküler epidemiyoloji  
Plazmid profilleri; Ribotiplendirme: RFLP-PFGE. **Doç. Dr. Sesin Kocagöz**  
SDS-PAGE Protein profilleri; AP-PCR. **Doç. Dr. Burçin Şener**
- 12.00 - 12.50 Öğle yemeği (Diomed destekli)
- 12.50 - 13.30 **Uydu Sempozyum (Diomed)**
- 13.40 - 14.30 Oturum Başkanı: **Prof. Dr. Serhat Ünal**  
Penisilin bağlayan proteinler ve beta-laktam direncindeki rolleri.  
**Henry F. Chambers, M.D. Prof.**  
(*Penicillin Binding Proteins and their role in beta-lactam resistance*)
- 14.30 - 15.00 Kahve Molası
- 15.00 - 15.50 Oturum Başkanı: **Prof. Dr. Gülşen Haşçelik**  
Mycobacterium tuberculosis'in bağışıklık yanıtından kaçışı.  
**Joel D. Ernst, M.D. Assoc. Prof.**  
(*Mycobacterium tuberculosis evasion of immune responses*)
- 16.00 - 16.50 Oturum Başkanı : **Prof. Dr. Hatice Özenci**  
Rutin moleküler mikrobiyoloji laboratuvarında kalite kontrolü.  
**Doç. Dr. Tijen Özacar**  
Nükleik asit amplifikasyon yöntemlerinde sorunlar ve standardizasyon.  
**Prof. Dr. Rıza Durmaz**
- 17.00 - 17.40 **Uydu Sempozyum (Genomed)**
- 17.50 - 18.30 **Uydu Sempozyum (Bio-Merieux)**



**26 Nisan 2000 - Çarşamba**

09.00 - 09.50

Oturum Başkanı:

**Prof.Dr.Şemsettin Ustaçelebi**

Viral hepatitlerin tanı ve tiplendirilmesinde kullanılan moleküler yöntemler.

**Peter Simmonds, B.M, Ph.D., MRCPPath.**

*(Molecular methods used in diagnosis and typing of viral hepatitis.)*

09.50 - 10.20

Kahve Molası

10.20 - 11.10

Oturum Başkanı: **Prof. Dr. Seyyal Rota.**

Mikobakterilerde ilaç direncinin belirlenmesinde kullanılan moleküler yöntemler.

**Diana L. Williams, Ph.D. Assist. Prof.**

*(Molecular methods to determine drug resistance in mycobacteria)*

11.20 - 12.10

Oturum Başkanı: **Prof. Dr. Okan Töre**

Bakteriyel enfeksiyon etkenleri için moleküler tanı ve araştırma yöntemleri.

**Doç. Dr. Neşe Saltoğlu**

Salmonellalarda patojenite mekanizmalarinin moleküler biyolojisi.

**Prof. Dr. Mine Anđ-Küçüker**

12.10 - 12.30

Öğle yemeği (Roche destekli)

12.30 - 13.10

**Uydu Sempozyum (Genomed)**

13.20 - 14.10

Oturum Başkanı: **Prof. Dr. Tümer Vural**

Atipik pnömoni etkenlerinin tanısında kullanılan moleküler yöntemler.

**James T. Summersgill, Ph.D., Assoc. Prof.**

*(Molecular methods used in the diagnosis of atypical pneumonia agents)*

14.20 - 15.10 Oturum Başkanı: **Prof. Dr. Kurtuluş Töreci**  
Moleküler yöntemler ile anaerobik bakterilerin tanısı ve araştırılması.  
**Sidney M. Finegold, M.D., Prof.**  
(*Molecular methods used in the diagnosis and research of anaerobic bacteria*)

15.10 - 15.30 Kahve Molası

15.30 - 16.10 Oturum Başkanı: **Prof. Dr. Emel Tümbay**

Enfeksiyon etkeni mantarların tanı ve araştırmasında kullanılan moleküler yöntemler. **Prof. Dr. Semra Kuştimur,**

Moleküler yöntemlerin Klinik Mikoloji'de önemi ve uygulamadaki değeri.

**Yrd. Doç. Dr. Süleyha Hilmioğlu**

16.20 - 16.55 Oturum Başkanı: **Prof. Dr. Nilgün Daldal**

Parazit hastalıklarının tanı ve araştırmasında kullanılan moleküler yöntemler.

Sıtma: **Dr. Metin Atambay;**

Leyişmaniyaz: **Dr. Seray Özensoy;**

Toksoplazmoz: **Dr. Yüksel Gürüz**

17.15 - 19.30 Kapadokya Turu

20.30 Gala Yemeği

### **27 Nisan 2000 - Perşembe**

09.00 - 09.50 Oturum Başkanı: **Doç. Dr. Salih Türkoğlu**

Viral hastalıkların tanı ve araştırmasında kullanılan moleküler yöntemler.

**Doç. Dr. Hakan Abacıoğlu,**

**Doç. Dr. Fügen Yarkın,**

**Doç. Dr. Selda Erensoy**



10.00 - 10.50

Oturum Başkanı:

**Prof. Dr. Şemsettin Ustaçelebi**

Enfeksiyon hastalıklarında genetik  
immünizasyon.

**Prof. Dr. Murat Ertürk,**

**Doç. Dr. Mehmet Ziya Doymaz**

11.00 – 11. 45

Değerlendirme, dilekler ve kapanış, poster  
ödülllerinin dağıtılması.

## KONGRE KONUK KONUŞMACILARI:

### **Henry F. Chambers, M.D. Prof.**

"University of California San Francisco" Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyal Patogenez bölümlerinin başkanlıklarını yapmakta. Altı bilimsel dernek üyesi. Yirmiden fazla bilimsel dergi ve kuruluşun editör ve inceleme kurulu üyesi. Uzmanlaştığı konu penisilin bağlayan proteinler ve ilaç direncindeki rolleri, stafilokoklara bağlı endokarditler, tüberküloz tedavisinde beta-laktam antibiyotiklerin yeri, kinolon grubu antibakteriyellere direnç mekanizmaları. Bu konularda gerçekleştirmiş olduğu 150'yi aşkın bilimsel yayını bulunmakta.

### **Joel D. Ernst, M.D. Assoc. Prof.**

"University of California San Francisco" tıp fakültesi, Biyomedikal mezuniyet sonrası programı öğretim üyesi, "Loewenstein Tüberküloz Araştırma Laboratuvarı" yöneticisi, "Kardiyovasküler Araştırma Enstitüsü" araştırmacısı. Altı bilimsel komite üyesi ve çok sayıda bilimsel dergi editörü. Temel araştırma konusu fagositer hücrelerin işlevinde görev alan biyokimyasal mekanizmaların moleküler temeli ve patojen mikroorganizmaların bu mekanizmalara karşı koyuş yolları. Bu konularda yayınladığı elliden fazla bilimsel eseri ve kazandığı sekiz ödülü var.

### **Sidney M. Finegold, M.D., Prof.**

"University of California Los Angeles", tıp fakültesinde, tıp, mikrobiyoloji, immünoloji ve moleküler genetik profesörü. "Anaerobe Society of the Americas", "Infectious Diseases Society of America", "Society of Microbial Ecology and Disease", "VA Society of Practitioners in Infectious Diseases" başkanlıklarını yapmış ayrıca "Western Association of Physicians", "Western Society for Clinical Investigation" ve "Association of American Physicians" üyesi. "Anaerobe" dergisinin baş editörü, "Reviews of Infectious Diseases" ve "Clinical Infectious Diseases" dergilerinin editörü. Yirmiden fazla bilimsel ödüle sahip. Anaeroblar ile ilgili komitelerin üyesi. Temel araştırma konusu anaerobik mikroorganizmalar. Bu konuda ikiyüzü aşkın bilimsel yayını ve birçok kitabı bulunmakta.



**Peter Simmonds, B.M, Ph.D., MRCPPath.**

“University of Edinburgh”, Viroloji bölümü öğretim üyesi; “Edinburgh Royal Infirmary Thrust” onursal viroloji konsültanı. Temel araştırma konuları arasında, HIV patogenezi, HIV hücre tropizmini etkileyen genetik değişiklikler bulunmakta. Hepatit C virüsü genetik heterojenitesi ve genetik sınıflandırması konusunda yaptığı çalışmalar, bugün tüm Dünya’da kabul edilen bir sınıflandırma sisteminin ortaya çıkmasını sağlamış durumda. Kan yolu ile bulaşan virüslerden Hepatit G, TT virus gibi etkenlerin ortaya çıkartılması konusunda çalışmalarını sürdürmekte.

**James T. Summersgill, Ph.D., Assoc. Prof.**

“University of Louisville”, Enfeksiyon Hastalıkları Laboratuvarı başkanı. Üç bilimsel dernek üyesi. Temel araştırma konusu atipik pnömoni etkenlerinin patogenezi, ilaçlara duyarlılıkları ve direnç geliştirme mekanizmalarının moleküler temelleri, klinik örneklerde saptanmaları için moleküler yöntemlerin geliştirilmesi. Bu konularda desteklenmiş ondan fazla araştırma projesi yayınlanmış elliye aşkın bilimsel eseri bulunmakta.

**Diana L. Williams, Ph.D. Assist. Prof.**

“Louisiana State University”, Biyolojik Bilimler, Mikrobiyoloji Programı, Halk Sağlığı ve Epidemiyoloji bölümü yardımcı profesörü ve “Gillis W. Long Hansen's Disease Center” moleküler biyoloji araştırmacısı. Üç bilimsel dernek ve dokuz bilimsel komite üyesi. Temel araştırma konusu özellikle tüberküloz ve lepraya yol açan mikobakterilerde ortaya çıkan ilaç direncinin genetik temeli ve bu etkenlerin klinik örneklerden saptanması için moleküler yöntemlerin geliştirilmesi. Bu konularda elliye aşkın bilimsel yayını ve kazandığı altı ödülü bulunmakta.

**POSTER SUNUMLARI**

**1. GÜN**

**(25 NİSAN 2000)**



A01

**Hepatit B Virüsün Core Antijen (HBcAg) Geninin *E. Coli*'de Klonlanması**

Y. Bulut, M. Z. Doymaz

*Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Elazığ.*

Bu çalışmanın ilk aşamasında, Hepatit B virüs pozitif bireylerin serumundan izole edilen HBV DNA'sından virüsün 'core' antijenini (HBcAg) kodlayan 550 baz çifti uzunluğunda gen bölgesi polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltıldı. Daha sonra ise, HBcAg genini içeren rekombinant plazmidin oluşturulması, *E.coli* 'ye transformasyonu ve rekombinant plazmidlerin identifikasyonu gerçekleştirildi. Çalışmada plazmid vektör olarak pUC-19 kullanıldı. Plazmid vektör ve HBcAg geninin aynı restriksiyon endonükleaz enzimleriyle sindirilmesinden sonra, HBcAg geni plazmide yerleştirildi ve *E.coli*'ye bu plazmidler transforme edildi. Transformasyona uğrayan *E.coli* hücrelerinin ampisilin içeren ortamda seçilmesinden sonra, HBcAg genini taşıyan rekombinant plazmidler, PCR ve restriksiyon enzim analizi ile belirlendi.

A02

**D.Ü. Tıp Fakültesi Genetik Tanı Laboratuvarına Başvuran 340 Hastanın “Hybrid Capture Sistemi” ve PCR Yöntemi ile Belirlenmiş HBV-DNA Sonuçlarının Değerlendirilmesi**

S.Tekeş, M.N.Alp, S. Şimşek, S.Kalkanlı, T.Budak

*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır.*

Kronik hepatit, siroz ve hepatosellüler karsinomanın en önemli nedenlerinden biri olan hepatit B virüsü (HBV) infeksiyonu dünyada yılda 1 milyonu aşkın insanın ölümüne neden olmaktadır. Yaklaşık olarak dünyada 300 milyon kişi hepatit B virüsünün taşıyıcısıdır. Yüksek insidansı, akut ve kronik hastalıklarla sonuçlanabilmesi gibi nedenlerle HBV infeksiyonu tüm dünyada önem taşımaktadır. HBV'nin akut ve kronik infeksiyonlarının, rutin tanısında serolojik belirteçler eskiden beri kullanılmaktadır. Son yıllarda moleküler tanı yöntemlerinin kullanılması ile serumda ve karaciğerde HBV-DNA varlığı gösterilmiştir. HBV serolojik belirteçleri akut yada kronik HBV enfeksiyonunu ifade etmediği olgularda bile; HBV-DNA moleküler tanı yöntemleri ile saptanabilmektedir. Serumda veya plazmada HBV'nin kantitatif ve kalitatif olarak belirlenmesi hastalığa doğru tanı konmasında ve tedavinin uygulanıp izlenmesinde çok önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmada önceden ELISA ile HBV seropozitiflik taraması yapılmış bulunan 340 hastada 'Hybrid Capture Sistemi' ile (Digene Diagnostics, Beltsville, MD) HBV-DNA kantitatif olarak ve PCR ile de kalitatif olarak değerlendirilmiştir. 'Hybrid Capture' Sistemi ile 340 hastanın 282'sinde kantitatif olarak HBV-DNA negatif ve 58'inde pozitif olarak saptanmıştır. Kantitatif olarak HBV-DNA negatifliği saptanmış 282 hastanın yapılan PCR analizinde, 17'sinde HBV-DNA pozitif olarak tespit edilmiştir. HBV-DNA pozitif olarak tespit edilmiş 58 hastanın yapılan PCR analizinde ise 57'sinde HBV-DNA'nın pozitif, 1'inde negatif olduğu saptanmıştır.



**A03** Hepatit B Virus DNA'sının Araştırılmasında "In House" Polimeraz Zincir Reaksiyon (PZR) Yönteminin 'Digene Hybrid Capture' Sistemi ile Karşılaştırılması

B. Otlu, R. Durmaz, K. Şahin, M. Tekerekoğlu, N. Büyükberber

*İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya*

Hepatit B virus DNA'sının araştırılmasına imkan sağlayan moleküler yöntemler, viral replikasyonu göstermeleri ve kantitatif sonuçlarının tedaviyi takipte kullanılması bakımında oldukça yararlıdır. Amplifikasyon ve hibridizasyon temeline dayalı çok sayıda yöntem geliştirilmiş olmakla beraber bunların özgüllük ve duyarlılıkları arasında önemli farklılıklar vardır. Bu çalışmada ekonomik bakımdan ucuz olan "in house" PZR yönteminin özgüllük ve duyarlılığını, ticari olarak üretilmiş bir hibridizasyon kiti olan 'Digene Hybrid Capture' sistemiyle karşılaştırmayı amaçladık. HBV DNA araştırılmak üzere laboratuvarımıza gönderilen HBsAg pozitif 268 serum çalışmaya alındı. "Digene Hybrid Capture" sistemi, kit prosedürüne uyularak çalışıldı ve sonuçlar luminometrede okundu. Beş pikogram/mililitre ve üzerindeki değerler pozitif olarak değerlendirildi. PZR çalışmasında, serumlar Proteinaz K (200mg/ml) ile muamele edildikten sonra DNA saflaştırılması yapılmadan amplifikasyona alındı. Amplifikasyon sonucu, agoroz jel elektroforezinde yürütüldükten sonra etidyum bromürle boyanarak, değerlendirildi. İncelenen 268 serumun 61'i (%22.8) hibridizasyon yöntemiyle, 41'i (%15.3) PZR pozitif bulundu. Örneklerin 207'si her iki yöntemle negatif, 41'i ise pozitif olarak bulundu. PZR yöntemi; DNA konsantrasyonu 50-200 pg/ml arasında olan 10 pozitif örneğin 3'ünde (%30), 200 pg/ml üstündeki 40 örneğin 38'inde (%95) pozitif sonuç vermiştir. DNA konsantrasyonu 50 pg/ml'nin altındaki 11 hastada ise PZR ile HBV DNA tespit edilememiştir. PZR yönteminin *Digene Hybrid Capture* sistemine göre duyarlılığı %67, özgüllüğü %100 olarak tespit edildi. Bu sonuçlar, 'in house' PZR yönteminin rutin uygulamaya konulmadan önce, ticari bir kitle karşılaştırmalı olarak denenip, koşullarının standardize edilmesinin gerekliliğini ortaya koymaktadır.



A04

## HBV-DNA PCR Sonuçlarının Serolojik Göstergelerle Karşılaştırılması

T.Us , Y.Akgün , B.Kanan

*Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir*

Hepatit B virusu (HBV) infeksiyonu, dünyanın bütün ülkeleri için en önemli sağlık sorunlarından biridir. Hepadnavirus grubundan olup, karaciğer tropizmi gösteren ve kronik infeksiyon oluşturma eğiliminde olan bu virus, siroz ve hepatosellüler karsinomaya sebep olması dolayısıyla, tüm dünyada önemini korumaktadır. Bu çalışmada, HBV infeksiyonlarının tanısında önemli bir replikasyon kriteri olarak kullanılan HBV-DNA ile HBsAg, HBeAg, anti-HBeAb ve anti-HBc total arasındaki ilişkinin saptanması amaçlanmıştır. Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim dalı PCR laboratuvarına gönderilen 231 hasta serumu çalışma kapsamına alınmıştır. HBV-DNA, HBV genomunun S, P bölgelerine ait primer çifti (Biometra), dNTP (Boehringer M) ve *taq* polimeraz enzimi (Boehringer M) kullanılarak yapılan PCR yöntemiyle, serolojik göstergeler ise EIA (Organon) yöntemiyle saptanmıştır. PCR ürününün görüntülenmesi, etidyum bromür kullanılarak agaroz jel elektroforez işlemini takiben U.V translüminatörde yapılmıştır. HBV-DNA, 231 hastanın, 63'ünde (%27,27) pozitif olarak saptanmıştır. HBsAg, 202 hastada (%87,44) pozitif, 29'unda (%12,55) ise negatif bulunmuştur. HBV-DNA' sı pozitif 63 hastanın, 62'sinde (%98,41) HBsAg , 24'ünde (%38,09) HBeAg, 42'sinde (%66,66) anti-HBe, 48'inde (%76,19 ) anti-HBc total pozitifliği gösterilmiştir. Sonuç olarak, HBV infeksiyonlarının izlenmesinde EIA yöntemiyle araştırılan serum işaretlerinin özellikle kronik infeksiyonun ve tedavinin takibinde HBV-DNA sonuçlarıyla birlikte değerlendirilmesi gerekliliği bir kez daha anlaşılmıştır.



**A05 Normal ve Normalden Yüksek Karaciğer Transaminaz Düzeylerine Sahip Hepatit B Virus Seropozitif Hastalarda Hepatit B Virus DNA Pozitifliği**

Ç. Güney, M. Yapar, Ş.T. Yıldırım, T. Haznedaroğlu

*GATA ve Askeri Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

Bu çalışmada ELISA ile HBsAg pozitif 354 hasta serum örneğinde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile hepatit B virus DNA'sı araştırıldı. HBsAg pozitif hastaların 125'inde serum transaminaz değerleri normal, 10'unda sadece AST, 69'unda ALT, 150'sinde ise hem AST hem de ALT birlikte normalden yüksekti. Sadece AST'si yüksek 10 hastanın 4'ünde (%40), ALT'si yüksek 69 hastanın 25'inde (%36), AST ve ALT birlikte yüksek hastaların 101'inde (%67) hepatit B virus DNA'sı pozitif bulunurken, hem AST hem de ALT'si normal hastaların 28'inde (%22) hepatit B virus DNA'sı pozitif bulundu. Sonuç olarak HBsAg'i pozitif ancak karaciğer enzimleri normal olguların önemli bir kısmında hepatit B virus DNA pozitifliği saptandı.



**Kronik Hepatit B İnfeksiyonunda Hibridizasyonla HBV-DNA Düzeyinin Belirlenmesi**S. Karagöz<sup>1</sup>, H. Kilir<sup>1</sup>, Ç. Gürsoy<sup>2</sup>*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı<sup>2</sup>, Kayseri*

Kronik hepatit B infeksiyonu siroz, hepatoselüler karsinom gibi komplikasyonları nedeniyle takip ve tedavi edilmesi zorunlu bir infeksiyondur. Aktif viral replikasyonunun en iyi göstergesi HBV-DNA'sının serumda gösterilmesidir. Bu çalışmada anti viral tedavi uygulanan kronik hepatit B tanılı hastaların izlenmesinde hibridizasyonla HBV-DNA'sının kantitatif olarak belirlenmesi, bunun serolojik ve biyokimyasal değerlerle karşılaştırılması amaçlandı. Çalışmaya kronik hepatit B tanılı, antiviral tedavi alması planlanan 31 hasta dahil edildi. Hastaların tedavi başlangıcı, tedavinin birinci, ikinci, üçüncü, altıncı ayları ve tedavinin birinci yılı sonundaki HBV-DNA düzeyleri, ALT düzeyleri ve tedavi sonu hepatit B virus belirleyicileri araştırıldı. HBV-DNA düzeyleri sinyal amplifikasyonuna dayalı kemilüminesan hibridizasyon metodu ile araştırıldı (Digene Hybrid Capture System, Murex Diagnostics S.A.). HBV belirleyicilerinden HBsAg, HBeAg, Anti Hbe, Anti HBs mikropartikül enzim immün assay ile (Abbott AxSYM System) çalışıldı. Bulgular: 31 hastanın 13'i kadın 20'si erkek, yaş ortalaması 35,77±10,76, yaş aralığı 20-50 idi. Hastaların hiçbirisinde HBeAg/Anti HBe serokonversiyonu izlenmezken, 2 hastada anti HBs pozitifliği birinci yılın sonunda belirlendi. Tedaviye cevap veren ve vermeyen gruplar arasındaki ilişki Tablo-1'de gösterilmiştir. Sonuç olarak, kronik hepatit B infeksiyonunda tedavinin izlenmesinde HBV-DNA'sının hibridizasyonla belirlenmesi klinisyene yol gösterici olabilir.

Tablo 1. Tedaviye cevap veren ve vermeyen gruplar arasındaki ilişki

	Tedaviye cevap veren grup n: 20	Tedaviye cevap vermeyen grup n:11	p
HBV DNA <sup>1</sup>	441,95±592,58	252,18±345,63	0,340
HBV DNA <sup>2</sup>	0,10±0,31	182,18±357,56	0,122
ALT <sup>3</sup>	80,95±54,99	123,18±74,99	0,083
ALT <sup>4</sup>	26,80±12,59	153,45±205,14	0,068

<sup>1</sup> Tedavi başlangıcı HBV DNA düzeyi,<sup>2</sup> Birinci yıl sonu HBV DNA düzeyi,<sup>3</sup> Tedavi başlangıcı ALT düzeyi,<sup>4</sup> Birinci yıl sonu ALT düzeyi.



A07

**HBe Gen Bölgesinin *E. coli*'de Ekspresyonu**

M.Yapar, Ç.Güney, A.Kubar, A.C.Başustaoğlu

*GATA ve Askeri Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

Bu çalışmada HBV infeksiyonunun tanısında kullanılan serolojik yöntemlerden HbeAg ve Anti-HBe için gerekli antijenin hazırlanması amacıyla HBV'nin e antijen gen bölgesi *E. coli*'ye klonlanmış ve eksprese edilmiştir. Bunun için HBe bölgesini kodlayan genin primerleri tespit edilmiş ve HBV-DNA'sından PCR aracılığıyla HBe gen bölgesinin PCR ürünü elde edilmiştir. Elde edilen amplifikasyon ürünü TOPO-TA (Invitrogen) klonlama kiti ile PCR-TOPO plazmidine klonlanmıştır. Buradan farklı iki restriksiyon enzimi ile kesilen parça pSE420 (Invitrogen) ekspresyon plazmidine klonlanmıştır. *E.coli*'ye transfer edilen plazmid IPTG ile indüklenerek HBeAg'nin ekspresyonu sağlanmıştır. HBeAg varlığı ELISA ile teyit edilmiştir.

A08

**Serumda Hepatit B Virus DNA (HBV-DNA) Saptanmasının PCR ve Hibridizasyon Yöntemleriyle Karşılaştırılması**S.Kuştimur, M.Yalınay Çırak, I.Fidan, H.Mansuroğlu, S.Rota, S.Türet*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı , Ankara*

Hepatit B virusu (HBV), akut ve kronik viral hepatite neden olan ve tüm dünyada yaygın olarak bulunan bir mikroorganizmadır. HBV infeksiyonuna bağlı akut hepatitlerin kronikleşme potansiyelinin bulunması, bu olguların bir bölümünün siroza dönüşmesi ve hepatoselüler karsinom gelişme riski nedeniyle HBV infeksiyonunun tanısının konularak erken dönemde tedavinin yönlendirilmesi gerekmektedir. Son yıllarda HBV DNA'nın viral replikasyonun belirlenmesinde önemli bir gösterge olduğu belirlenmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), nükleik asitlerin çoğaltılmasına dayanan bir yöntemdir ve düşük titrede viremi olduğunda bile oldukça duyarlıdır. HBV-DNA hibridizasyon yöntemi (Digene Hybrid Capture), kemilüminesan saptama esasına dayanan HBV-DNA'yı kantitatif olarak belirleyen bir yöntemdir. Çalışmamızda ELISA yöntemi ile HBsAg'i pozitif olarak saptanan 50 serum örneğinde HBV-DNA düzeyi, PCR ve hibridizasyon yöntemleriyle karşılaştırılarak belirlenmiştir.

PCR (-)	Hibridizasyon (-)	31 olgu
PCR (+)	Hibridizasyon (+)	13 olgu
PCR (+)	Hibridizasyon (-)	6 olgu

Elde edilen sonuçlar, HBsAg pozitif olan hastaların öncelikle tarama testi amacı ile kullanılacak olan PCR ile değerlendirilip, gerekli olguların kantitasyon için hibridizasyon çalışmasına alınmasının uygun olacağını ortaya koymuştur.



**A09** **Hepatit C Virusu (HCV) Enfeksiyonunun Tanısında EIA (Enzim Immunoassay) ve PCR (Polymerase Chain Reaction) Yöntemlerinin Karşılaştırılması**

S.Rota, M.Yalınay Çırak, G.Bozdayı, S.Kuştimur

*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

Hepatit C Virus enfeksiyonları tüm dünyada yaygın olarak rastlanır ve önemli komplikasyonlara neden olabilir. HCV enfeksiyonunun seyri sırasında, serumda HCV antikoruna saptanıncaya kadar uzun bir seronegatif dönem bulunmaktadır. Bu nedenle erken dönemde virus RNA'sının saptanmasına yönelik PCR yöntemi tanıda değerlidir. Bu çalışmada, HCV antikorlarını araştıran EIA ve viremiyi saptayan PCR yöntemleri ile elde edilen sonuçların karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışılan 149 olgunun serumlarında EIA yöntemiyle HCV antikorları ve PCR yöntemiyle HCV RNA varlığı araştırılmıştır. incelenen serumların %53'ünde EIA yöntemi ile anti-HCV saptanmış, %44.9'unda ise PCR ile HCV RNA varlığı gösterilmiştir. HCV RNA saptanan örneklerin %94'ünde EIA ile anti-HCV saptanmıştır. EIA ile anti-HCV saptanan 79 serum örneğinin 57'sinde (%72.1) HCV RNA pozitif bulunmuştur. Dokuz serum örneğinde ise EIA ile anti-HCV negatif saptanırken, PCR ile HCV-RNA pozitifliği bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar, HCV enfeksiyonunun tanısında tarama testi olarak EIA testlerinin kullanılabileceğini, ancak geçirilmiş ve aktif enfeksiyon ayırımının yapılabilmesi yanısıra HCV antikoruna oluşmamış viremik olguların saptanabilmesi için serumda HCV-RNA varlığının araştırılması gerektiğini ortaya koymuştur.



A10

**Kan Bankacılığında Havuz Yöntemiyle HCV-RNA PCR Tarama Testinin Değerlendirilmesi**R.Yazan Sertöz, S. Erensoy, S. Göksel, N. Özkalay, A. Bilgiç*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi**Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir*

Kan donörlerinin antikor testleriyle taranmasına karşın transfüzyon ile bulaşan virus infeksiyonlarına halen rastlanmaktadır. Serokonversiyon öncesi infeksiyonu da saptayabilen nükleik asit testlerinin kullanılması ile bu risk azaltılabilir. Bu çalışmada kan bankacılığında havuz yöntemiyle HCV-RNA PCR tarama testinin rutin kullanımda güvenilirliği ve uygunluğunun araştırılması amaçlandı. Çalışma kapsamında iki grup hedeflendi. Birinci grupta HCV-RNA testi (Amplicor, Roche Diagnostics) çalışılmış 192 plazma örneğinden 24'lü gruplar halinde sekiz havuz hazırlandı. Havuzlardan üçüne birer, birine iki HCV-RNA olumlu, kopya sayısı bilinen plazma örneği seçildi. Havuzları hazırlayan kişiye örnekler kör olarak verildi. İkinci grupta kan donörü sorgulamasından geçmiş 384 kişinin plazma örneğinden aynı şekilde havuzlar hazırlandı. Cobas Ampliscreen HCV test v 2.0 (Roche Diagnostics) ile HCV-RNA araştırıldı. Olumlu bulunan havuzlar önce altılı gruplar, ardından birer birer olmak üzere çalışıldı. Birinci grupta dört havuzda pozitiflik bulundu. Bunların açılımı ile üç havuzda birer, bir havuzda iki plazma örneğinde pozitiflik saptandı. Pozitif örneklerin, HCV-RNA kopya sayısı sırasıyla 80.000, 17.000, 161.000 ve 500.000'in üstü kopya/ml idi. İkinci grupta pozitiflik saptanmadı; bu gruptaki örneklerin hepsinde anti-HCV testi (AXSYM, Abbot Diagnostics) olumsuz bulundu. İnternal kontroller kullanıldığında hiçbir örnekte PCR inhibitörü saptanmadı. Plazma havuzlarında HCV-RNA tarama testi güvenilir bir testtir. Ancak özel bir altyapı ve deneyimli personel gerektirir. Havuzların hazırlanma basamağı kritiktir; rutin kullanım için bu basamakta da otomasyon şarttır.



**A11 Anti-HCV Pozitif Olgularda HCV-RNA Pozitifliği ve Karaciğer Enzim Düzeylerinin Karşılaştırılması**

G. İmadoğlu Yetkin, N.Apaydın, G.Bahar Ülkar, M.Erol,  
O.Alp Gürbüz, N.Ceryan, A.Mert

*SSK Ankara Eğitim Hastanesi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara*

Hepatit C virüs (HCV) infeksiyonu tanısında ELISA ile anti-HCV araştırılması pratik ve en sık kullanılan yöntemdir. Anti-HCV pozitifliği ile birlikte ALT ve AST enzimlerinin yüksek olması aktif HCV infeksiyonuna işaret eder. Anti-HCV pozitif olgularda viral replikasyonu göstermek için HCV-RNA varlığı araştırılır. Bu çalışmada HCV-RNA pozitifliği ile karaciğer enzim düzeylerinin karşılaştırılması amaçlandı. SSK Ankara Eğitim Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına müracaat eden anti-HCV pozitif 120 olguda HCV-RNA varlığı Revers Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR, Promega) yöntemi ile araştırıldı. HCV-RNA pozitif ve negatif saptanan hastalarda ALT ve AST değerleri karşılaştırıldı. Sonuçlar Tablo-1'de özetlendi.

Tablo 1: HCV-RNA pozitif ve negatif hastalarda enzim düzeyleri

	ALT		AST	
	N	↑	N	↑
HCV-RNA (+) 30 (%25)	26 %77	4 %23	23 %76	7 %24
HCV-RNA (-) 90 (%75)	63 %70	27 %30	60 %67	30 %33

ALT: N (0-38) U/lt, AST: N (0-40) U/lt

HCV-RNA pozitif olan hastaların karaciğer enzim düzeyleri ile HCV-RNA negatif olanların enzim düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Karaciğer enzimleri normal olan anti-HCV pozitif olgularda HCV-RNA araştırılmasının önemli olduğu gözlemlendi.



**A12** Hepatit C Virus RNA' sının RT-PCR ile Belirlenmesi ve Hemodiyaliz Hastalarında HCV-RNA Genotiplerinin RFLP Yöntemi ile Saptanması

G. Bozdayı<sup>1</sup>, H. Verdi<sup>2</sup>, S. Rota<sup>1</sup>

*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>,  
Ankara Üniversitesi Hepatoloji Enstitüsü<sup>2</sup>, Ankara.*

Hepatit C virusu (HCV), 80'li yılların sonunda genomu tanımlanmış, pozitif sens tek iplikçikli bir RNA virusudur. Genomu yaklaşık 9400 nükleotid uzunluğundadır ve içerdiği tek ORF'si 3013-3030 aminoasit büyüklüğündeki bir poliproteini kodlar. Genomun karşılıklı iki ucunda 5' UTR ve 3' UTR bölgeleri bulunur. 5' UTR bölgesinin bir kısmı HCV genotip ve suptiplerinin ayırımında etkili olan bölgedir. Tüm dünyada en az altı majör HCV genotipi (1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 4,5,6) tesbit edilmiştir. Bu çalışmada HCV-RNA'nın RT-PCR ile belirlenmesi ve Türkiye'deki hemodiyaliz hastalarının HCV genotipinin saptanması amaçlanmıştır. Çalışmaya, 52 hemodiyaliz hastası dahil edildi. HCV-RNA, serum örneklerinden 'acid-guanidinium-phenol-chloroform' yöntemi ile ekstrakte edildi. AMV ters transkriptaz enzimi kullanılarak komplementer DNA sentezlendi. HCV' nin 5' UTR bölgesi nested RT-PCR yöntemi ile amplifiye edildi. İkinci tur PCR ürünleri Hae III, RsaI; Mva I, Hinf I enzimleri ile ikili, Bst U I ile de tek enzim kesimine tabi tutuldu. Çalışmaya dahil edilen 52 hemodiyaliz hastasının 23'ünde anti-HCV pozitif bulundu. Anti-HCV'si pozitif bulunan 23 hastanın RT-PCR yöntemi ile 19'unda HCV-RNA pozitif bulunurken, anti-HCV' si negatif hastaların da RT-PCR ile 1'inde HCV-RNA pozitif bulunmuştur. HCV-RNA' sı pozitif olan 20 hastanın RFLP'si yapılmış, 18'i genotip 1b, ikisi ise genotip 1a bulunmuştur. Sonuç olarak bizim hastalarımızda da dünyada yaygın olan genotip 1b çoğunluk olarak bulunmuştur.



A13

## Renal Transplant Olgularında Hepatit G Virus İnfeksiyonu ve Genotipleri

S.Erensoy<sup>1</sup>, A.Zeytinoğlu<sup>1</sup>, S.Göksel<sup>1</sup>, T.Özacar<sup>1</sup>, M.Özkahya<sup>2</sup>,  
S.Türkoğlu<sup>3</sup>, A.Bilgiç<sup>1</sup>

*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Nefroloji Bilim Dalı<sup>2</sup>, İzmir  
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>3</sup>, İstanbul*

HGV genotiplerinin prevalansı coğrafi bölgelere göre değişmektedir. Ege Üniversitesi Transplantasyon Merkezi'nde renal transplant olgularında, RT-PCR ile (5' NCR ve NS5 bölgesi multipleks PCR) %42 oranında HGV-RNA saptanmıştır. HGV infeksiyonu nozokomiyal viral bulaşma göstergesi olabilir. İzolatların moleküler analizi ile infeksiyon kaynakları araştırılabilir. Çalışmada, nozokomiyal HCV infeksiyonu problemi olan bu popülasyonda, benzer yolla bulaştığı bilinen HGV'nin moleküler genetik analizinin yapılması amaçlandı. 14 renal transplant alıcısından (6 HCV-RNA+, 8 HCV-RNA -) elde edilen HGV 5'NCR (kodlamayan bölge) nükleik asit dizileri, kısmi analiz ile değerlendirildi. Çalışmaya ayrıca iki kronik C hepatitli ve bir kronik B hepatitli olgudan elde edilen üç dizi daha katıldı. Serum örneklerinden "high pure viral nucleic acid" kiti (Roche Diagnostics) ile RNA ekstraksiyonu yapıldı. Komplementer DNA elde edildikten sonra 5'NCR bölgesine ait primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu ile U44402 dizisine göre 100. ve 285. nükleotidler arası çoğaltıldı. PCR ürünlerinin, dideoksinükleotid zincir sonlandırma yöntemi ile doğrudan ve çift yönlü otomatik nükleik asit dizi analizleri yapıldı (Big Dye Terminator kit, ABI Prism 310; Perkin Elmer). Elde edilen diziler, HGV genotiplerini temsil eden referans dizilerle Clustal W (v1.8) programı kullanılarak karşılaştırıldı ve 'neighbour-joining' yöntemi kullanılarak 'Treecon' (1.3b) programında filogenetik ağaç çizildi. Bu çalışmaya ait 17 dizi genotip 2 olarak belirlendi. Filogenetik ağaçta HGV dizilerinde, çalışma gruplarına özel bir kümelenme gözlenmedi. Bu popülasyonda HGV genotip 2 baskındır; infeksiyon kaynakları çeşitlidir.



A14

**Hemodiyaliz Hastalarında HGV Sıklığı'nın "Reverse Transcriptase Polimerase Chain Reaction" (RT-PCR) Yöntemi ile Araştırılması**A.Şengül<sup>1</sup>, U.Uyanık<sup>2</sup>, A.İnal<sup>1</sup>, F.E.Orkunoğlu<sup>1</sup>*Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Tıp Fakültesi İmmunoloji Bilim Dalı<sup>1</sup>, Mevki Asker Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları Kliniği<sup>2</sup>, Ankara.*

Ülkemizde HGV infeksiyonu sıklığını gösteren yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. HGV infeksiyonu için risk grubunda olan hemodiyaliz hastalarında HGV infeksiyonu sıklığını belirlemek için toplam 42 hemodiyaliz hastasında (22 bayan, 20 erkek) 'Reverse Transcriptase Polimerase Chain Reaction' (RT-PCR) yöntemi ile HGV-RNA, koinfeksiyonların belirlenmesi için HBsAg (EIA), anti-HCV (EIA) ve karaciğer enzim düzeylerinin belirlenmesi amacıyla da alanin-aminotransferaz (ALT) ve aspartat-aminotransferaz (AST) düzeyleri çalışılmıştır. Hastaların diyaliz süreleri, transfüzyon ve operasyon anamnezi de kaydedilmiştir. Çalışmamızda HGV RNA pozitifliği %7.1, HBV infeksiyonu sıklığı %9.5 bulunmuştur. HBsAg pozitif hastalarda HGV RNA pozitifliği oranı %25, anti-HCV pozitifliği %54.2 bulunurken, anti-HCV pozitif hastalarda HGV infeksiyonu sıklığı %13.6 olarak saptanmıştır. HGV RNA sıklığı ile hemodiyaliz süresi, transfüzyon uygulanması, operasyon geçirme veya karaciğer enzim düzeyleriyle anlamlı bir ilişki kurulamamıştır. Sonuç olarak, kan yolu ile bulaştığı bilinen HGV infeksiyonunun, hemodiyaliz hastaları için Türkiye'de de risk oluşturduğu görülmektedir.



A15

## Sağlıklı Kişilerde ve Kronik Böbrek Yetmezlikli Hastalarda HGV-RNA Prevalansı

N.Öztürk<sup>1</sup>, R.Mıstık<sup>1</sup>, K.Dilek<sup>2</sup>, Y.Heper<sup>1</sup>, M.Yurtkuran<sup>2</sup>, O.Töre<sup>1</sup>

*Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı<sup>1</sup> ve Nefroloji Bilim Dalı<sup>2</sup> Görükle, Bursa*

Hepatit G virusunun (HGV) hepatit yapıp yapmadığı halen tartışılmaktadır. Karaciğer veya diğer hastalıklarla ilişkisi net olarak konmamakla beraber değişik gruplarda saptanabilmektedir. Bu nedenle bu çalışmada sağlıklı kişilerde ve kronik böbrek yetmezlikli (KBY) olgularda diğer hepatit markırları ile birlikte HGV-RNA prevalansını belirleyerek aminotransferaz yükseklikleri, transfüzyon sayısı ve hemodiyaliz süresi ile ilişkisinin araştırılması amaçlandı. Araştırmaya 200 sağlıklı kişi ile 17 böbrek transplant (RT) olgusu ve 67 KBY'li olgu alındı. Olgularda HBsAg, anti-HCV ve HGV-RNA çalışıldı. HBsAg ve anti-HCV EIA (Axysm, Abbott Lab.) ile, HGV-RNA nested revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile 5'-uncoding bölgesine ait primerler kullanılarak çalışıldı. 208 bp uzunluğundaki son PCR ürünü etidyum bromür ile boyanan agaroz jel elektroforezde gösterildi. Sağlıklı 200 kişinin 77'si kadın 123'ü erkekti ve yaş ortalamaları  $36\pm 10$  idi. KBY'li 67 olgunun 31 kadın 36'sı erkekti ve yaş ortalamaları  $39\pm 14$ , RT olgularının ise yaş ortalaması  $35\pm 7$  olan 4 kadın 13 erkekten oluşuyordu. HGV-RNA, 200 sağlıklı kişinin 1'inde (%0.5), 67 KBY olgunun 22'sinde (%31.3) ve 17 RT olgusunun 6'sında (%35.2) pozitif bulundu. HGV-RNA pozitif ve negatif KBY ve RT'li olgular arasında hemodiyaliz süresi ve kan transfüzyonu sayısı arasında bir farklılık saptanmadı. Ayrıca sağlıklı grupla karşılaştırıldıklarında HGV-RNA pozitifliğinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ( $p<0.001$ ). KBY ve RT'li 84 olgudan HGV-RNA saptanan 27 olgunun ; 1'i HBV, 17'si HCV ve 4'ü hem HBV hem de HCV ile ko-enfekte idi. HCV ile ko-enfekte olguların 6'sı ile HCV+HBV ile ko-enfekte olguların 3'ünde ALT yüksekliği saptandı. Yalnızca HGV ile enfekte 5 olguda ALT yüksekliği saptanmadı. Sağlıklı gruptan 1 olguda saptanan HGV -RNA, HBsAg ile birlikte idi ve bu olguda ALT normal düzeyde idi. Sonuç olarak; viremi prevalansının sağlıklı kişilerde düşük, KBY ve RT olgularında yüksek bulunması parenteral yol ile bulaştığını, yalnızca HGV ile enfekte olgularda ALT'nin normal olması ise en azından klinik anlamda bir karaciğer hasarı yapmadığını düşündürmektedir. Ayrıca HGV-RNA pozitif ve negatif olgular arasında kan transfüzyon sayısı ve hemodiyaliz süreleri açısından fark olmaması da bulaşta tanımlanamayan başka yolların da olduğunu gösterebilir.



A16

**Farklı Gruplarda TT virus (TTV) Genotip Dağılımı**S. Erensoy<sup>1</sup>, A.A. Sayiner<sup>1</sup>, U.S.Akarca<sup>2</sup>, R. Yazan Sertöz<sup>1</sup>, T.Özacar<sup>1</sup>, A.Bilgiç<sup>1</sup>*Ege Üniversitesi Tıp Fak. Mikrobiyoloji ve Kl. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Gastroenteroloji Bilim Dalı<sup>2</sup>, İzmir*

Bu çalışmada post-transfüzyon hepatitindeki rolü tartışılan TTV infeksiyonunun ve genotiplerinin kan donörleri (KD), fulminan hepatit (FH), ve hemodiyaliz (HD) olgularında araştırılması amaçlanmıştır. HBsAg, anti-HCV, anti-HIV, HGV-RNA negatif kan donörleri (n=72), HCV-RNA pozitif hemodiyaliz olguları (n=10), fulminan hepatit (non-A-G) olguları (n=10) çalışmaya alındı. Serum örneklerinden nükleik asit ekstraksiyonu yapıldı (High Pure Viral Nucleic Acid kit, Roche Diagnostics). TTV'nin ORF-1 bölgesine ait dejenere primerler (NG059, NG061, NG063) kullanılarak "semi-nested" PCR ile çoğaltılan ürünler jel elektroforezinde incelendi. Olumlu örneklerden elde edilen PCR ürünlerinin , dideoksinükleotid zincir sonlandırma yöntemi ile doğrudan ve çift yönlü otomatik nükleik asid dizi analizi yapıldı (Big Dye Terminator kit, ABI Prism 310; Perkin Elmer). Elde edilen diziler, bildirilmiş TTV genotiplerini temsil eden referans dizilerle Clustal W (v 1.8) programı kullanılarak karşılaştırıldı. "Neighbour-joining" yöntemiyle 'Treecon' (1.3b) programında filogenetik ağaç çizildi. Kan donörlerinin 37/72'sinde (%51.4), hemodiyaliz olgularının 7/10'unda ve fulminan hepatitli olguların 8/10'nunda TTV-DNA saptandı. KD grubundan elde edilen on, HD grubundan altı ve FH grubundan sekiz izolat sekanslandı. Yedi KD, dört HD, beş FH izolatu TTV genotip 2; üç KD, iki HD, üç FH izolatu ise genotip 1 olarak saptandı. Kan donörleri grubunun %51.4'de TTV-DNA saptanması, bu virusun transfüzyon dışı bulaşma yolları olduğuna ilişkin görüşü desteklemektedir. Her üç çalışma grubunda elde edilen izolatların çoğunluğu genotip 2 olarak saptanmıştır. Ancak çalışma grupları arasında (ORF1) genotip dağılım farkı bulunmamıştır.



**A17** **Doğum Yapan Asemptomatik Kadınlardan Alınan Genital Örneklerde HSV-1 ve HSV-2 DNA Sıklığının PCR ile Araştırılması**  
 B. Ülgen, S. Ergin, K. Midilli, K. Altaş

*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

Herpes simplex tip 1 (HSV-1) ve Herpes simplex tip 2 (HSV-2), cinsel yolla bulaşan hastalıklardan olup, infeksiyon oluşturmada önemli paya sahiptirler. Cinsel aktivitenin başladığı yaşlardan itibaren ve cinsel eş sayısındaki artışla paralellik gösteren risk oranı, özellikle gebeliğin son dönemlerinde bebek açısından ciddi bir yeni doğan tehdidi oluşturmaktadır. Bu nedenle HSV saçılımındaki en tehlikeli risk grubunu oluşturan asemptomatik gebelerle çalışma amaçlandı. Bu amaca yönelik olarak, örnekler hassas ve hızlı bir yöntem olan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) uygulandı. Doğum eylemi başlamış olan 130 hamile kadından eş zamanlı olarak vajinal sürüntü ve kan örnekleri alındı. 130 vajinal sürüntü örneğinin tamamının HSV-1 ve HSV-2 DNA açısından PCR ile incelenmesi sonucunda, bir örnekte HSV-2 DNA, beş örnekte ise HSV-1 DNA pozitif olarak bulundu. Elde edilen tüm amplifikasyon ürünlerine, uygun problemlerin kullanıldığı "Dot-Blot" yöntemi yapılarak, PCR yöntemi ile saptanan sonuçlar doğrulandı. Aynı hastalara ait tüm kan örneklerinde yapılan HSV-2 IgG ve IgM incelemesi sonucunda; örneklerin üçünde HSV-2 IgG ve bu üç örnekten sadece birinde HSV-2 IgM pozitif olarak saptandı. HSV-2 IgM ve HSV-2 IgG'si pozitif olan bu gebenin sürüntü örneğinde HSV-2 DNA'sı da pozitif olarak bulundu. HSV-1 DNA'sı PCR ile pozitif sonuç veren 5 gebenin serum örneklerinde aynı zamanda HSV-1 IgG ve IgM çalışıldı. Tüm örneklerde IgG pozitif bulurken, yalnız bir örnekte IgM de pozitif sonuç verdi. Belirli bir sosyoekonomik kesimi kapsayan çalışmamız sonucunda elde edilen değerler oldukça düşük oranları göstermekte ise de yurt dışı yayınlarda sunulan değerlerle uyumlu görülmektedir. Ayrıca, çalışılan grup göz önüne alındığında yeni doğan bebekler için taşıdığı risk açısından, oran küçük dahi olsa, dikkate alınmayı gerektirecek kadar ciddidir.



A18

## Sağlıklı Kişilerde ve Lenfoproliferatif Bozukluğu Olan Hastalarda HHV-6 virusunun IFA Yöntemi ile Antikor Dağılımı ve PCR - RLFP Yöntemi ile Varyant Analizi

G.Tarhan<sup>1</sup>, N.Yılmaz<sup>1</sup>, S.Kuştimur<sup>2</sup>, T.Kocagöz<sup>3</sup>, M.Dağlı<sup>4</sup>,  
N. Gökalp<sup>1</sup>

*R. S. Hıfzıssıhha Merkez Başkanlığı Viroloji Laboratuvar Şefliği<sup>1</sup>,  
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>2</sup>,  
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>3</sup>  
Sağlık Bakanlığı Demetevler Onkoloji Hastanesi<sup>4</sup>, Ankara*

Human herpes virus-6 (HHV-6) insanlarda exantem subitumun etiyolojik ajanı olmakla birlikte, immün sistemi etkileyen bir kofaktör olması nedeni ile son yıllarda oldukça önem kazanmıştır. Sağlıklı yetişkinlerde seroprevalansı %80-100 arasında olup, enfeksiyon yaşamın ilk yıllarında kazanılmaktadır. HHV-6 izolatları; biyolojik, immünolojik ve moleküler özellikleri bakımından varyant A ve varyant B olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Bu varyantların farklı popülasyon ve hasta gruplarında dağılımının farklı olması, virusun toplumdaki varlığına ilaveten varyant türünün de belirlenmesini gerekli kılmaktadır. Ülkemizde HHV-6 sıklığı ve varyant dağılımı konusunda çalışma bulunmamaktadır. HHV-6 virüsünün daha çok tükürükle bulaştığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Kalabalık bir toplumda yaşamamız ve hijyenik koşulların yetersiz oluşu HHV-6 enfeksiyonlarının ülkemizde de fazla olacağını düşündürmektedir. Bu amaçla toplumumuzda, çeşitli yaş gruplarında sağlıklı bireylerde ve lenfoproliferatif bozukluğu olan olgularda HHV-6 virusuna karşı antikor prevalansının IFA yöntemi ile saptanması ve aynı popülasyonlarda PCR-RFLP yöntemi ile HHV-6 varyant A ve B dağılımının belirlenmesi hedeflendi. Çalışmada yaşları 6 ay - 50 yaş arasında değişen 123 sağlıklı birey ve 50 lenfoproliferatif bozukluğu olan kanserli hasta değerlendirilmeye alındı. Sağlıklı popülasyonlarda çeşitli yaş gruplarına göre ayrılan 123 bireyin serumlarında IFAT ile %75.60 HHV-6 IgG ile %26.01 ve HHV-6 IgM antikor pozitifliği saptanırken lenfoproliferatif bozukluğu olan grupta sırasıyla %96 ve %28 olarak bulundu. Her iki gruptaki PCR sonuçları gözönüne alındığında sağlıklı bireylerde HHV-6 pozitiflik oranı %37 iken lenfoproliferatif bozukluğu olanlarda %46 idi. RFLP ile yapılan varyant dağılımı gözönüne alındığında ise sağlıklı bireylerde ve lenfoproliferatif bozukluğu olan hastalarda varyant B' nin varyant A' ya göre daha yaygın olduğu gözlemlendi.



**A19 Cytomegalovirus İnfeksiyonunun 'Hybrid Capture' CMV DNA Yöntemiyle Kantitatif Olarak Belirlenmesi**S.Türet, I.Fidan*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

*Cytomegalovirus* (CMV); herpes grubundan, yenidoğanlarda ve immunsupresif hastalarda ciddi infeksiyonlara neden olabilen, çoğu kez latent olarak bulunan bir virustur. Kanda CMV disseminasyonu aktif infeksiyon esnasında olur, viremi klinik hastalığın progresyonu için majör virolojik risk faktörüdür. Böylece, sistemik CMV yükünün kantitasyonu, CMV infeksiyonunun oluşmasını önceden belirlemede yüksek sensitivite ve spesifite sağlar. Anti-CMV antikorlarının tespiti, hastaların çoğunun immünsupresif olmasından dolayı güç olabilir. Kanda kantitatif olarak viral DNA'nın belirlenmesi CMV hastalığının erken tanısını sağlar, antiviral tedavinin etkinliğini izlemede önemlidir. 'Hybrid Capture' yöntemi, kanda CMV DNA'nın kantitatif olarak tespitini sağlayan hızlı ve sensitif bir testtir. CMV infeksiyonu düşünülen hastalardan laboratuvarımıza gönderilen 50 kan örneğinden elde edilen beyaz kan hücrelerinde 'Hybrid Capture' yöntemi ile CMV DNA araştırılmıştır. Bu örneklerin 12'sinde(%24) CMV DNA pozitif olarak belirlenmiştir. ELISA yöntemi ile pozitif örneklerin 9'unda (%75) CMV IgM pozitif, 2'sinde (%17) CMV IgM ve CMV IgG pozitif, 1'inde (%8) CMV IgM negatif olarak belirlenmiştir. CMV infeksiyonu açısından risk altında bulunan hastalarda serolojinin çok güvenilir olmadığı görülmektedir. Bu hastalarda oluşacak doku hasarı riskinin azaltılması ve tedavinin etkinliğinin belirlenmesi amacıyla mutlaka CMV DNA düzeyinin belirlenmesi gerektiği düşünülmektedir.



## Çeşitli Yakınmalarla Kliniklere Başvuran Hastalarda EBV Serolojisi

M.Özsoy, N.Yılmaz, N.Gökalp

*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Viroloji Laboratuar Şefliği, Ankara*

Epstein Barr virus (EBV) dünya nüfusunun % 90'ından fazlasını infekte eden human gama herpes virusudur. Primer infeksiyonu takiben EBV, infekte ettiği kişilerde yaşam boyu kalır. Hastalık genellikle kendiliğinden düzelmesine rağmen B lenfositlerinde transformasyona yol açarak onları immortalize eder. Burkitt lenfoma ve nazofaringeal karsinomanın etiolojisinden sorumlu tutulmaktadır. Hastalık sosyoekonomik seviyesi düşük, kalabalık ailelerden oluşan toplumlarda, özellikle küçük yaşlarda görülmektedir. Bu çalışmada toplumumuzdaki EBV seroprevalansını saptamak için değişik yaş gruplarında EBV markerleri araştırıldı. Bu amaçla 1994-1998 yılları arasında lenfadenopati, nörolojik bulgular, hepatit, kalp damar hastalığı, organomegali, yüksek ateş, döküntü, anjin gibi solunum sistemi bulguları, üriner sistem bulguları, artralji, GIS bulguları, kronik yorgunluk sendromu, malignensi gibi çeşitli nedenlerle Ankara Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Viroloji laboratuarına başvuran 489 kişi çalışma kapsamına alındı. Kontrol grubu olarak da gebelik planlanan ve bu amaçla TORCH istenen kişiler çalışmaya alındı. EBV viral kapsid antigen (VCA), nükleer antigen (EBNA), early antigen (EA/D)'ye karşı oluşan anti-VCA IgM ve IgG ve anti-EBNA IgG ve IgM, anti-EA/D IgG antikorları ELISA metoduyla araştırıldı. EBV "marker" pozitifliği 0-5 yaş grubunda EBNA IgG ve IgM ,VCA IgG için en düşük bulunurken, bu "marker"lar için pozitiflik oranı yaşla artmaktaydı. Tüm hasta grubunun %9.8'inde anti-EBNA IgM, %70.8 inde anti-EBNA IgG, %1.6' sında anti-VCA IgM, %69.5'unda anti-VCA IgG, %23.9'unda anti-EA IgG pozitif bulundu. Yaş grupları gözönüne alındığında EBV serokonversiyonunun yaşla birlikte arttığı, 16-30 yaş grubunda maksimum seviyede olduğu görüldü. Tüm çalışma grubunda EBV serokonversiyonunun %83.2 olduğu bulundu. Primer infeksiyon görülme oranının tüm popülasyonda %1.6 iken 6-10 ve 21-30 yaş grubunda en fazla olduğu saptandı. Yakın primer infeksiyonun 11-15 yaş grubunda ve 31 yaşından büyüklerde daha fazla olduğu ve tüm çalışma grubunda ise bu oranın %16.9 olduğu görüldü. Tüm çalışma grubunda geçirilmiş infeksiyon oranı %45.2 iken bu oran yaşla birlikte artarak 31 yaşından büyüklerde %60.7 ye çıkmaktadır.



**A21 Epstein-Barr Virüsü Nükleer Antijeni-1'in Normal ve Neoplastik Hücrelerde Transkripsiyon Düzenleyici Rolü**

P Akan, T. Sarıoğlu, M. Ersöz ve E. Altıok.

*Kadir Has Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul*

Epstein-Barr virüsü (EBV) ile enfekte olan B lenfositlerinde farklı latensi programları sergilenir. Lenfoblastoid tipi hücrelerde (LCL), Wp ve Cp promoterlerinden biri kullanılarak tüm viral nükleer antijenler (EBNA 1-6 ) yapılırken, Burkitt lenfoma (BL) ve suskun normal B hücrelerinde Q promoter (Qp) kullanılarak yalnız EBNA-1 yapılır. Viral replikasyon için zorunlu bir transkripsiyon faktörü olan EBNA-1'in replikasyon orijini (Ori P) ve Qp bölgesi aşağısında değişik transkripsiyon faktörlerinin DNA'ya muhtemel bağlanma bölgeleri (Qe) vardır. Amacımız, bu bölgelerin transkripsiyon düzenleyici rollerini tanımlamak, viral ve hücrel faktörler arasındaki etkileşimleri açığa çıkarmak ve nihayet EBV ile ilişkili kanser hücrelerine karşı yeni tedavi stratejileri geliştirebilmektir. Yukarıda Ori P bulunan CAT veya GFP ökaryotik ekspresyon vektörlerini klonladıktan sonra EBV(+) ve EBV(-) BL hücrelerine aktardık. Sadece EBV(+) hücrelerde güçlü bir haberci aktivitesi gördük. Ayrıca, SV40 enhanseri etkisinde CAT veya GFP moleküllerini taşıyan vektörleri klonlayarak aktarıncaya her iki tip hücrede de güçlü haberci aktivitesi saptadık. Bu plazmidin bir başka bölgesine normal Qe'yi veya EBNA-1 bağlama bölgesini 'site-directed mutagenesis' yöntemi ile tahrip ettiğimiz Qe'yi yerleştirdiğimizde her iki bölgenin de güçlü SV40 enhanserini baskılayabildiğini gördük. Bulgularımız, Ori P aktivitesinin viral faktörlere bağlı olduğunu ancak Qe'nin baskılayıcı etkisinin EBNA-1'e değil, hücrel faktörlere bağlı olduğunu göstermektedir. Ori P, Qp ve Qe'ye bağlanan faktörlerin aydınlatılmasıyla normal ve kanserli hücrelerdeki latensi mekanizmaları daha iyi anlaşılacaktır.



A22

## Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Viroloji Laboratuvarı'nda Türkiye'de İzole Edilen Poliovirusların, RFLP ve İmmünolojik Yöntemle Sabin Aşı Suşu veya Vahşi Poliovirus Ayırımının Değerlendirilmesi

E. Özkaya, M. Arita, İ. Alaeddinoğlu

*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Viroloji, Doku Kültürü ve Enterovirus Laboratuvarı, Ankara*

Poliomyelit eradikasyon programı (PEP) kapsamında Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Viroloji, Doku Kültürü ve Enterovirus Laboratuvarı'nda, ülkemizde değişik yıllarda ve değişik illerdeki poliomyelit vakalarından hücre kültürü ve mikronötralizasyon yöntemiyle polioviruslar izole ve identifiye edilmektedir. Bu polioviruslardan vahşi (non Sabin-like) poliovirus tip 1 izolatları ile Sabin aşı suşu tip 1 ve Mahoney (prototip vahşi poliovirus tip 1) suşlarının, üç primer çifti; PrE (+) -PrE (-), UG 1- UC 1, UG 7- UC 12 kullanarak, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile PCR ürünlerini elde ederek, RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) yöntemiyle analiz ederek ülkemizden izole ettiğimiz suşların Sabin aşı suşu benzeri veya vahşi tip poliovirus olup olmadıklarını standart suşlarla kıyaslayarak değerlendirdik. Aynı zamanda aşı suşuna spesifik monoklonal antikor kullanarak laboratuvarımızca izole edilmiş olan aynı suşları immünolojik yöntemle de doğrulamayı amaçladık. RFLP'de üç tip restriksiyon enzimi; Dde I, Hae III ve Hinf I kullandık. Her bir PCR ürününün restriksiyon enzimleri ile muamele sonrası elde edilen DNA fragmanları agaroz jel elektroforezi ile izlendi. PCR yöntemiyle 5' bölgesine yöneltilen PrE (+)-PrE (-) primerleri kullanılarak tüm suşlardan cDNA elde edilerek incelendi. Aynı primer sistemini kullanarak Echovirus 30 gibi diğer enteroviruslardan da cDNA elde edilebildiği görüldü. Fakat poliovirusun kapsid proteini VP 1 bölgesine ait nükleik asitleri çoğaltabilen UG 1 - UC 1 primer çifti ve 3D bölgesine ait nükleik asitleri çoğaltabilen UG 7 - UC 12 primer çifti kullanılarak PCR yapıldığında Sabin, Mahoney ve Sabin-like (Sabin derive) suşları ile cDNA ürünü elde edildi. Fakat bazı non Sabin-like izolatlarla agaroz jel elektroforezle yeterli band elde edilemediği görüldü. Ayrıca RFLP yöntemiyle non-Sabin like poliovirus izolatları arasında farklılıklar olduğu gösterildi. Aşı suşuna spesifik monoklonal antikor kullanılan immünolojik yöntemle, poliovirus izolatlarının Sabin derive suşlar olduğu identifiye edilerek ayrımları yapılabildi. PCR ürünlerinin RFLP analiz sonuçları ile spesifik monoklonal antikor kullanılan immünolojik yöntem sonuçlarının tamamen uyumlu olduğu gözlemlendi.



A23

**Kabakulak Virüsünün İmmunojenik Proteinlerinin İmmunoblot Deneyi ile Gösterimi**A. Kalkan <sup>1</sup>, Y. Bulut <sup>2</sup>, H. Bulut <sup>3</sup>, M. Z. Doymaz <sup>2</sup>

*Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <sup>1</sup>, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı <sup>2</sup>, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı <sup>3</sup>, Elazığ.*

Bu çalışmada, kabakulak virüsü ile infekte VERO hücrelerindeki viral proteinlerin Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezinden (SDS-PAGE) sonra immunoblot deneyi ile gösterilmesi amaçlanmıştır. Elektroforezi yapılan infekte hücre proteinlerinin "Coomassie" mavisi ile boyanmasında, infekte hücrelerde bazı viral proteinler belirlenmesine rağmen, infekte edilmeyen hücre protein motifleri ile arasında çok belirgin farklılıklar yoktu. Kabakulak virüsüne özgül hemagglütinasyon-inhibisyon (HAI) titresi yüksek serumlarla gerçekleştirilen immunoblot deneylerinde ise, matriks (32 kDa), füzyon-1 (60 kDa), nükleokapsid (72 kDa) ve hemagglütinin-nöraminidaz (80 kDa) proteinlerinin virüsün immunojenik proteinleri oldukları belirlendi.

A24

**Türkiye'den İzole Edilen Kızamık Virus İzolatlarının Genetik Karakterizasyonu**N.Yılmaz<sup>1</sup>, P.A. Rota<sup>2</sup>, T.Taşyürek<sup>3</sup>*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkez Başkanlığı Viroloji<sup>1</sup>, Ankara**CDC Measles Section<sup>2</sup>, Atlanta, USA**Sağlık Bakanlığı, Güdül Sağlık Grup Başkanlığı<sup>3</sup>, Ankara*

Bilindiği üzere kızamık halen tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir. Mart 1998'de Ankara ili Güdül ilçesinde ortaya çıkan kızamık salgınında, ateş, döküntü, öksürük, burun akıntısı, konjunktivit ve Koplik lekeleri gibi klinik semptomları olan 16 kızamık olgusundan ilk beş gün içinde kan, boğaz ve burun sürüntüsü veya burun aspiratları alındı. Klinik numuneler kızamık virusunu izole etmek için B95a hücrelerine ekildi. Türkiye'de ilk kez izole edilen beş kızamık virusunun bir veya iki kez B95a hücrelerinde pasajı yapıldı. Enfekte hücrelerden RNA ekstrakte edildi. RT-PCR yapıldı ve elde edilen DNA'nın nükleotid dizi analizi yapıldı. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün tanımladığı genotipleme şeması kullanılarak N geninin karboksi (COOH) ucunu kodlayan 450 nükleotid, Türkiye'den izole edilmiş olan T1, T2, T4, T5 ve T6 izolatlarda amplifiye edildi. Nükleotid dizi analizi bu izolatların D6 genotipine ait olduğunu gösterdi. Türkiye'den izole edilen virusların N sekansları iki nükleotidden daha fazla farklılık göstermedi. T2, T4 ve T6 genotip olarak identik bulundu. N gen sekansları oldukça benzer olduğundan, viruslardan sadece birinin T2'nin H geni sekanslandı. H gen sekanslarının DSÖ'nün referans viruslarının H gen sekanslarıyla karşılaştırılması, Türkiye'den izole edilen virusların genotip D6'nın bir üyesi olduğunu doğruladı. Bugüne değin Türkiye ve komşu ülkelerinden kızamık virusu izole edilmemiştir. D6 genotip nadir olmayıp D6 genotipindeki viruslar Avrupa ülkelerinin çoğunda sirküle etmektedir.



**A25** **İshalli Çocuklarda PAGE Yöntemi ile Rotavirüs Araştırılması**M. Altındış<sup>1</sup>, A. Özkul<sup>2</sup>*Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Afyon.**Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı<sup>2</sup>, Ankara.*

Çalışmamızda bölgemizdeki ishallerde rotavirüs sıklığını tanıda en duyarlı yöntem olan "Polyacrylamide Gel Electrophoresis" (PAGE) ile saptamayı amaçladık. Gerek ishal yakınması ile çocuk polikliniğine başvuran gerekse taramalar esnasında okul-kreşlerdeki ishallerde rotavirüs RNA'sı saptanmış, özellikle kış aylarında çocuk gastroenteritlerinin tanısında ve yayılımının önlenmesinde rotavirüsün kesinlikle araştırılması gerektiği kanısına varılmıştır.

A26

**Borna Hastalığı Virusu p-24 Proteinin Klonlanması ve Rekombinant p-24 Elde Edilmesi**H.Yılmaz<sup>1</sup>, C.R.Helps<sup>2</sup>, D.A.Harbour<sup>2</sup>*İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, İstanbul**University of Bristol, Veterinary School, Division of Molecular and Cellular Biology<sup>2</sup>, Langford, BS 40 5DU, Bristol, UK*

Borna hastalığı ilk olarak atlarda nörolojik bozukluklarla karakterize bir hastalık olarak bildirilmiştir. Son yıllarda hastalık, kediler ve psikiyatrik bozukluğu olan insanlar dahil diğer bazı sıcak kanlı canlılarda da saptanmıştır. Hastalığın hem insanlarda hem hayvanlarda saptanmış olması, etkenin zoonoz olduğunu ve nörolojik bozuklukları olan hayvanların ve insanların bu hastalık açısından test edilmesi gerektiğini göstermektedir. Hastalığa neden olan virus (BDV = Borna disease virus = Borna hastalığı virüsü) yeni bir RNA virüsü olarak karakterize edilmiş ve yeni bir familya olan Bornaviridae familyasında yer almıştır. Bu çalışmada, kedilerden alınan beyinlerden BDV-p24 proteinini kodlayan ORF (open reading frame) için RNA ekstraksiyonu yapıldı. Ekstrakte edilen RNA'dan reverse transkripsiyon ile cDNA elde edildi ve nested PCR uygulandı. PCR ürünleri %1 agaroz jel elektroforez ile etidyum bromür varlığında incelendi. Daha sonra p-24 geni içeren plazmid vektör (PQE-30) elektroporasyon yöntemiyle *E.coli* XL1-Blue hücrelerine verilerek klonlandı. Seçilen klonların p-24 üretilip üretilmediği SDS-PAGE ve immunoblotting yöntemiyle araştırıldı ve 24kD ağırlığında protein üreten klonlar saptandı. Klonlardan Nikel agaroz p-24 izolasyonu yapıldı.



A27 Doğrudan ve Heterodupleks Yaratici Kullanılarak DNA Heterodupleks Analizi ile '*Mycobacterium tuberculosis*' Suşlarında Rifampisin Direncinin Hızlı Saptanması

Z. Sarıbaş, T. Kocagöz.

*Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.*

*Mycobacterium tuberculosis* yavaş çoğalan bir mikroorganizma olduğu için kültür ile antitüberküloz ilaçlara karşı direncin saptanması uzun sürmektedir. Moleküler yöntemler ile dirence neden olan genetik değişiklikler kısa sürede saptanabilmektedir. İlaç hedefini dizgeleyen bir gen bölgesi polimeraz zincirleme tepkimesi (PCR) ile çoğaltıldıktan sonra mutasyon olmadığı bilinen kontrol DNA ile heterodupleksler oluşturulup, bunların elektroforezde yürüme hızları incelenerek mutasyonlar belirlenebilmektedir. Ancak sadece tek nükleotiddeki değişiklik, heteroduplekslerde her zaman ayırma yeterli bir farklılık yaratmadığı için biz bu çalışmada doğrudan ve heterodupleks yaratici kullanarak, *rpoB* genindeki rifampisin direncine neden olan mutasyonları araştırdık. Hasta izolatu *M.tuberculosis*'lerden çoğaltılan *rpoB* geni doğrudan heterodupleks için *M.tuberculosis* H37Ra kontrol suşundan çoğaltılan *rpoB* geni, ayrıca plazmid üzerine klonlanmış ve dizisi önceden birçok noktada değişikliğe uğratılmış heterodupleks yaratici *rpoB* geni karıştırılarak heterodupleksler oluşturuldu. Mutasyon varlığının saptanmasında, heterodupleks yaratici kullanıldığında %10 akrilamid içeren bir minijel ile 2-3 saatlik bir elektroforez yeterli olurken, doğrudan heteroduplekslerin ayırımı ancak büyük bir "mutation detection enhancement" (MDE) jel ile bir gece yürütme sonucunda mümkün olabildi. Heterodupleks yaratici kullanılması, *M. tuberculosis* suşlarında ilaç direncinin moleküler yöntemlerle belirlenmesini kolaylaştırarak, günlük kullanımdaki bir test haline getirebilir.



A28

**Çeşitli Beta-laktamaz İnhibitörü ve Beta-laktam Antibiyotik Kombinasyonlarının *M.tuberculosis*'e Karşı Etkinlikleri**

T.Kocagöz, İ.Dinçer

*Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

*M.tuberculosis* suşlarında klasik ilaçlara karşı ilaç direncinin giderek artması, araştırmacıları tüberküloz tedavisinde kullanılabilecek yeni ilaç arayışına itmiştir. İçerdiği beta-laktamaz nedeni ile beta-laktam antibiyotiklere dirençli olan *M.tuberculosis*, bu antibiyotikler beta-laktamaz inhibitörleri ile kombine edildiğinde, duyarlı hale gelmektedir. Bu çalışmada farklı beta-laktamaz inhibitörlerinin, *M.tuberculosis* beta-laktamazına, farklı beta-laktamların ise penisilin bağlayan proteinlerine etkinliklerinin farklı düzeyde olabileceğini düşünerek, çeşitli ilaç ve inhibitör kombinasyonlarının etkinliğini araştırdık. Hem penisilin, hem de sefalosporin grubundan antibiyotikler, tek başlarına ve sulbactam, kiavulanik asit ve tazobaktam ile kombine edildikten sonra Middlebrook 7H10 agar içerisinde seyreltimleri hazırlandı. *M.tuberculosis* H37Ra taze kültüründen hazırlanan süspansiyon ilaç içeren besiyerlerine ekildi ve dört hafta boyunca 37°C'de inkübe edildi. Üremeyi engelleyen en düşük ilaç derişimi minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak değerlendirildi. Beta-laktamaz inhibitörleri ile kombine edildiğinde çeşitli beta-laktamların MİK değerlerinde, 4 ila 8 katı düştüğü gözlemlendi. Etkinliği en yüksek beta-laktam ve beta-laktamaz inhibitör kombinasyonu, tüberküloz tedavisinde, özellikle de çoklu-dirençli tüberküloz vakalarında kullanılabilecek etkin bir ilaç olabilir.



**Tüberkülozun Moleküler Epidemiyolojisi**R. Durmaz<sup>1</sup>, S. Günal<sup>1</sup>, İ.H. Özerol<sup>1</sup>, M.D. Cave<sup>2</sup>, Z. Yang<sup>2</sup>*İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya**Regional Tuberculosis Genotyping Laboratory, University of Arkansas for Medical Science<sup>2</sup>, Little Rock, Arkansas, USA.*

Bu çalışmada, tüberküloz hastalarından izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* suşlarındaki IS6110 kopya sayısını, "restriction fragment length polymorphism" (RFLP) farklılığını ve tüberkülozun transmisyon hızını belirlemek, bölgelerin bazı epidemiyolojik ve demografik özelliklerinin IS6110 kopya sayısı ile RFLP farklılık derecesi üzerine etkilerini ortaya koymak amaçlandı. Yedi coğrafik bölgeden toplanan 323 *M.tuberculosis* suşu "IS6110 ve pTBN12 fingerprinting" yöntemleri ile incelendi. "IS6110 fingerprinting" yöntemi ile incelenen suşların üçünde herhangi bir bant elde edilemedi. Kalan 320 suşun 81'inde (%25.3) IS6110 kopya sayısı 1-5 (düşük kopya sayılı suşlar), 235'inde (%73.4) 6-15, 4'ünde (%1.3) ise 16-18 (yüksek kopya sayılı suşlar) olarak bulundu. Bu yöntemle 320 suşda saptanan farklı 216 (%64) profilden 155'i ortak olmayan (unique), 51'i ise en az iki izolatta ortak olan profillerdi. "pTBN12 fingerprinting" yöntemi IS6110 RFLP profili benzer olan 37 izolat ile, IS6110 kopya sayısı  $\leq 5$  olan 78 izolatın ileri analizi için kullanıldı. İki fingerprinting yönteminin sonuçları birlikte değerlendirildiğinde 216 (%68.9) farklı RFLP profili belirlendi. Bunlardan 157 profilin herbiri ayrı bir tüberküloz suşunda, 59'u ise iki veya daha fazla suşta (toplam 160) ortaktı. RFLP farklılık derecesi coğrafik bölgelerin demografik ve epidemiyolojik özelliklerinden anlamlı derecede etkilenmemektedir. Araştırma sonuçlarına göre transmisyon oranı %50.5, reaktivasyon oranı ise %49.5'tir. En yüksek transmisyon oranı Doğu Anadolu'da bulundu. Mevcut verilerden yararlanılarak yapılan hesaplamada ülkemizde bir yılda (1998 yılı içinde) oluşan tüberküloz olgularının en az %32'sinin yeni bulaşın sonucu olduğu anlaşılmaktadır. Ülkemizdeki yüksek tüberküloz insidansı yanında transmisyon oranının da fazla bulunması tüberkülozun yayılmasını engelleyen daha etkili önlemlerin alınmasını gerektirmektedir.



A30

### Klinik Örneklerden *Mycobacterium tuberculosis* Saptanmasında Bactec Radyometrik Yöntemi, Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Çoğaltılmış *M. tuberculosis* Direkt Testinin Karşılaştırılması

A.Albay, Ş.T.Yıldıran, A.Alp, H.Aydoğan, M.Şahin, T.Haznedaroğlu

*Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

Bu çalışmada klinik örneklerden *M.tuberculosis* saptanmasında üç farklı yöntem karşılaştırılmıştır. Bunlar, standart yöntem olarak kabul edilen Bactec radyometrik yöntemi, oligonükleotid primerlerin kullanıldığı polimeraz zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction; PCR) ve DNA ara ürünleri kullanılarak *M.tuberculosis* rRNA'sının amplifiye edildiği çoğaltılmış *Mycobacterium tuberculosis* direkt testidir (amplified *Mycobacterium tuberculosis* direct test, Gen Probe; AMTD). Bu amaçla, tüberküloz tanısı konmuş hastalardan alınan 80 klinik örnek ve tüberküloz bulunmayan hastalardan alınan 20 klinik örnek üzerinde çalışılmıştır. Örnekler dekontaminasyon ve homojenizasyon işleminden geçirildikten sonra mikroskopik incelemeleri yapıp Bactec şişelerine ekilmiş, bir kısmı da PCR ve AMTD yöntemleri ile çalışılmak üzere ayrılmıştır. Toplam 100 örnekten elde edilen sonuçlarda PCR ile Bactec yöntemlerinin uyumu %88, AMTD ile Bactec yöntemlerinin uyumu %86, PCR ile AMTD yöntemlerinin uyumu da %88 olarak saptanmıştır. Kullanılan iki moleküler yöntemin de hızlı ve özgül yöntemler olmaları nedeniyle, uygun şartları olan laboratuvarlarda standart yöntemlere ek olarak kullanılabileceği ve bazı durumlarda spesifik ilaç tedavisine başlanması için yeterli olabileceği sonucuna varılmıştır.



A31 **Tüberküloz Tanısı İçin TMA'nın (Gen-Probe MTD) Değerlendirilmesi**  
 C. Çavuşoğlu<sup>1</sup>, C. Ç. Saydam<sup>1</sup>, M. Tuncel<sup>2</sup>, A. Bilgiç<sup>1</sup>

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
 Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>  
 Klinik Bakteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı<sup>2</sup>  
 Bornova, İzmir

Kültürde *Mycobacterium tuberculosis*'in üreyebilmesi için 4-8 hafta gereklidir. Tanı için geçen süreyi kısaltmak amacıyla son yıllarda nükleik asit amplifikasyon temeline dayalı testler kullanıma sunulmuştur. Gen-Probe MTD de bu testlerden biridir. Test, transkripsiyon aracılı amplifikasyon (TMA) temeline dayanır. MTD testinde hedef 16S rRNA'dir. Bu çalışma çeşitli klinik örneklerde MTD'nin *M.tuberculosis*'i saptamadaki etkinliğini değerlendirmek amacıyla yapıldı. 1997-1999 yılları arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikobakteriyoloji Laboratuvar'ına gelen 505 klinik örnek çalışmaya alındı. Örneklerin dekontaminasyon ve homojenizasyonu için standart NALC-NaOH yöntemi kullanıldı. Dekontamine edilmiş örneklerin asidorezistan boyaması, Lowenstein-Jensen, Middlebrook 7H11 agar ve MB/BacT otomatik sıvı besiyerine ekimleri yapıldı. Kültürler 37°C'de 8 hafta inkübe edildi, üreyen mikobakteriler standart yöntemlerle tanımlandı. MTD üretici firmanın tanımladığı şekilde yapıldı. Beşyüz beş örneğin 110'ununda kültürde *M.tuberculosis* üredi ve bu örneklerin 92'sinde direkt baki (DB) olumluydu. Kültürde üreme saptanan 110 örneğin 106'si, DB olumlu 92 örneğin 91'i, DB olumsuz, 18 örneğin 15'i MTD ile de olumluydu. MTD ve kültür sonuçlarının karşılaştırılması Tablo 1'de özetlenmiştir.

**Tablo 1.** MTD'nin kültürle karşılaştırılması

Örnekler	Kültür(+) Örneklerde MTD		Kültür(-) Örneklerde MTD	
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
Tüm (n=505)	106	4	16	379
DB(+) (n=100)	91	1	7	1
DB(-) (n=405)	15	3	9	378

Kültürle karşılaştırıldığında MTD'nin duyarlılığı %96.36, özgüllüğü %95.94, pozitif prediktif değeri (PPV) %86.88, negatif prediktif değeri (NPV)'si %98.95 olarak bulundu. Duyarlılık DB olumlu örneklerde %98.91, DB olumsuz örneklerde %83.33 olarak belirlendi. Sonuç olarak MTD solunum örneklerinde tüberkülozun hızlı tanısında güvenilir bir şekilde kullanılabilir ancak daima tanıda altın standart olan kültürle birlikte uygulanmalıdır.



A32

## Solunum Örneklerinden *Mycobacterium tuberculosis*'in Saptanmasında TMA (Gen-Probe MTD) ile Roche Amplicor PCR'in Karşılaştırılması

C.Cavuşoğlu<sup>1</sup>, C.Ç. Saydam<sup>1</sup>, M. Tuncel<sup>2</sup>, A. Bilgiç<sup>1</sup>

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>

Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı<sup>2</sup>  
Bornova, İzmir

Solunum örneklerinden *Mycobacterium tuberculosis*'in hızlı tanısı için son yıllarda nükleik asit amplifikasyon temeline dayalı testler kullanıma sunulmuştur. TMA (Gen-Probe MTD) ve Roche Amplicor PCR bu testlerdendir. Bu çalışma balgam örneklerinde *M.tuberculosis*'i saptamada Gen-Probe MTD ve Roche Amplicor PCR'i karşılaştırmak amacıyla yapıldı. Klinik olarak akciğer tüberkülozu düşünülen 83 hastadan elde edilen 83 balgam örneği ile çalışıldı. Örneklerin dekontaminasyon ve homojenizasyonu için standart NALC-NaOH yöntemi kullanıldı. Dekontamine edilmiş örneklerin asidorezistan boyaması ve Löwenstein-Jensen besiyerine ekimleri yapıldı. Kültürler 37°C'de 8 hafta inkübe edildi, üreyen mikobakteriler standart yöntemlerle tanımlandı. MTD ve PCR testleri üretici firma tarafından tanımlanan şekilde uygulandı. Seksen üç balgam örneğinin 62'sinde direkt bakı (DB) ve kültür *M.tuberculosis* için olumluydu. On dokuz örnekte DB olumlu ve kültürde üreme saptanmazken iki örnekte kültür ve DB olumsuzdu. Seksen üç örneğin 78'inde MTD, 80'inde PCR olumlu olarak bulundu. Direkt bakı olumlu, kültürde üreme olmayan 19 balgam örneğinin tümünde PCR ve MTD olumluyken, kültür ve DB olumlu 62 örneğin 60'ında PCR, 59'unda ise MTD olumlu olarak saptandı. MTD ve Amplicor PCR sonuçları Tablo 1'de özetlenmiştir.

**Tablo1.** Balgam örneklerinde MTD ve Amplicor PCR'in karşılaştırılması

	MTD		Amplicor PCR	
	(+)	(-)	(+)	(-)
DB(+) Kültür(+) (n=62)	59	3	60	2
DB(+) Kültür(-) (n=19)	19	-	19	-
DB(-) Kültür(-) (n=2)	-	2	1	1
Tüm örnekler (n=83)	78	5	80	3

Sonuç olarak direkt bakı olumlu solunum örneklerinde MTD ve PCR'in *Mycobacterium tuberculosis* Kompleksi'ni saptamadaki duyarlılıkları arasında anlamlı fark saptanmadı. Pozitif ve negatif kontrollerin ticari kitin içinde bulunması ve testin yapılışı sırasında internal kontrol içermesi Amplicor PCR'in avantajlarıdır. Buna karşın, test süresinin daha kısa, uygulanmasının kolay ve maliyetinin daha düşük olması Gen-Probe MTD'nin avantajı olarak saptanmıştır.



A33

### H.Ü.T.F. Erişkin Hastanesi Klinik Patoloji Laboratuvarı'na 1998 Yılında Tüberküloz Tanısı İçin Gönderilen Klinik Örneklerin Tanımlanması ve BACTEC Sistemine Göre ARB ve TMA (Gen-Probe MTD) Yöntemlerinin Validitesi

A.Pınar<sup>1</sup>, B.Güçüz Doğan<sup>2</sup>, G.Hasçelik<sup>1</sup>, S.Tezcan<sup>2</sup>, A.Günalp<sup>1</sup>

*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Halk Sağlığı Anabilim Dalı<sup>2</sup>  
Ankara*

Tüberküloz enfeksiyonları ile savaşta birinci basamak, hastalığa tanı konulmasıdır. Tüberküloz enfeksiyonlarının tanısında diğer birçok enfeksiyon hastalığı tanısında olduğu gibi sadece klinik tablo ile değerlendirme yapmak yetersizdir. Bu nedenle laboratuvar tanı güvenilir, geniş toplum kesimlerini taramak için ucuz ve kolay uygulanır testlere gereksinim vardır. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Patoloji Laboratuvarı'nda tüberküloz tanısı için başlıca 3 test kullanılmaktadır. Bunlar Ehrlich-Ziehl Neelsen boyaması (ARB), BACTEC sistemi (Becton Dickinson) ve Amplified *Mycobacterium tuberculosis* Direct Test (MTD) (Gen-Probe)'dir. 1998 yılı içinde BACTEC sistemi ile incelenmesi için toplam 1541 örnek gönderilmiş 65 örnek pozitif bulunmuştur. Aynı sürede ARB için 2094, MTD için 1098 örnek gönderilmiş ve sırasıyla 136 ve 89 örnek pozitif bulunmuştur. Toplam 1125 örneğe BACTEC ile birlikte ARB incelemesi yapılmış ve ARB duyarlılığı %58.5, özgüllüğü %96.5 bulunmuştur. Toplam 463 örneğe ise BACTEC ile birlikte MTD incelemesi yapılmış ve MTD duyarlılığı %79.2, özgüllüğü %95.4 bulunmuştur. Pozitif olgularla negatif olgular arasında cinsiyet, izlenen bölüm ve gönderilen örnek tipi yönünden fark bulunamamıştır. Örnek tipi açısından en sıklıkla balgam ve bronkoalveolar lavaj gönderilmiş ve olgular en sıklıkla Göğüs Hastalıkları bölümünce izlenmiştir.



A34

**Rinderpest Virüsü (RPV) Hemaglütinin (H) Geninin Klonlanması ve Bakteriyel Açıklanması**M.Z.Doymaz<sup>1</sup>, A.O.Kılıç<sup>2</sup>, H.Bulut<sup>3</sup>, A.Özdarendeli<sup>3</sup>, Y.Bolat<sup>3</sup>

*Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı<sup>3</sup>, Elazığ*  
*Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>2</sup>, Trabzon*

Bu çalışmada, sığır vebası virüsünün (RPV) hemaglütinin (H) proteinini şifreleyen gen segmenti klonlandı ve klonlanan gen segmentinden H proteinin *Escherichia coli*'de açıklanması gerçekleştirildi. Bu amaçla, rinderpest bovine O Kabete (RBOK) suşu ile infekte edilen Vero hücrelerinden toplam RNA izole edildi ve tersine transkripsiyon yöntemiyle viral RNA cDNA haline getirildi. Daha sonra, RPV gen segmentine özgül primerlerin kullanılarak gerçekleştirilen polimeraz zincir tepkimesi (PCR) ile H genine karşılık gelen segment çoğaltıldı. Çoğaltılan gen segmentinin % 1.5'lük agaroz jelde büyüklüğü tespit edildi ve yaklaşık 1830 baz çifti uzunluğunda olduğu gösterildi. Çoğaltılan gen segmenti prokaryotik açıklama vektörü olan pEZZ18 içine yerleştirildi. Ortaya çıkan rekombinant plazmid (pRPVH4) geni içinde RPV H geni nükleotid dizisinin bulunduğu PCR amplifikasyon ve restriksiyon endonükleaz analizi ile doğrulandı. Rekombinant plazmid, *E. coli* transformasyonunda kullanıldı. Transforme edilen *E. coli* üst sıvısı içine salgılanan rekombinant H proteini affinite kromatografisi ile saflaştırıldı ve sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi ile belirlendi. Bu testlerde yaklaşık 65 kDa büyüklüğünde ve tek protein bandı halinde H proteini "Coomassie Brilliant" mavisi boyama metotlarıyla tespit edildi. Daha sonra gerçekleştirilen immüno blot yöntemiyle de rekombinant H proteininin immünolojik olarak kimliklendirilmesi yapıldı ve rekombinant H proteinin RPV'ye karşı hiperimmünize edilen tavşan serumuyla tepkime verdiği gösterildi.



**A35 HBsAg Negatif Kan Donörlerinin Farklı Serolojik Testler ve PCR ile Yeniden Değerlendirilmesi**Ç.Güney<sup>1</sup>, İ.Y.Avcı<sup>2</sup>, M.Yapar<sup>1</sup>, A.C.Başustaoğlu<sup>1</sup>, N.Esin<sup>1</sup>*GATA ve Askeri Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara<sup>1</sup>**GATA ve Askeri Tıp Fakültesi Kan Bankası, Ankara<sup>2</sup>*

Transfüzyonla ilişkili HBV infeksiyonlarının önlenmesi için kan donörlerinde HBsAg ELISA testlerinin uygulanması zorunludur. Bugün duyarlılığı %100 olarak kanıtlanmış HBsAg ELISA testleri henüz geliştirilememiştir. Bu çalışmada hastaya verilmeye hazır 198 adet sağlıklı donörün kan örnekleri, farklı serolojik testler ve moleküler yöntemlerle HBV yönünden tekrar araştırıldı. Tüm örnekler farklı bir ELISA yöntemi ile ikinci defa çalışıldı. Ayrıca anti-HBc total ELISA ile, HBV-DNA ise PCR ile araştırıldı. Donör kanlarının tamamında ikinci yöntemle de HBsAg negatif bulundu. Donörlerin %10 (20/198)'inde anti-HBc total pozitif bulundu. Anti-HBc total pozitif bir donörün kan örneğinde HBV-DNA pozitif bulundu. Sonuç olarak HBsAg ELISA tarama testlerinin transfüzyonla ilişkili HBV infeksiyonlarını tamamen önleyemediği ortaya konmuştur. Bu nedenle donörlerin HBV yönünden taranmasında HBsAg testleri yerine HBV ile karşılaşmayı saptayabilen anti-HBc total testlerinin uygulanmasının transfüzyonla ilgili hepatit gelişme riskini en aza indireceği kanısındayız.



A36

### Kronik Aktif HBV İnfeksiyonlu Olgularda Alfa İnterferon Tedavisinin Takibinde Kantitatif HBV-DNA Ölçümünün Değeri

C.M.Beker<sup>1</sup>, F.E.Orkunoğlu<sup>2</sup>, A.Şengül<sup>2</sup>, A.İnal<sup>2</sup>

*Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı<sup>1</sup>, İmmunoloji Bilim Dalı<sup>2</sup>, Ankara.*

Serolojik, biyokimyasal ve histopatolojik olarak kronik aktif HBV enfeksiyonu tanısı konmuş, HBV-DNA'sı pozitif bulunan 6, negatif bulunan 9 olgu tedavi grubu(TG);  $\alpha$ -INF ile tedaviyi kabul etmeyen 20 olgu da kontrol grubu (KG) olarak alınmıştır. TG hastalar 6 ay süreyle, haftada üç kez, 4.5 MU  $\alpha$ -INF'un subkutan yoldan verilmesi suretiyle tedavi edilmişlerdir. Her iki grupta 12 ay süre ile takibe alınmıştır. Tedavi öncesi ve sonrası hibridizasyon yöntemi ile serum HBV-DNA düzeyleri belirlenmiş, serolojik HBV markerleri (HBsAg, HBeAg, Anti-HBe), ALT düzeyleri araştırılmış ve karaciğer biyopsileri yapılmıştır. HBV DNA negatifleşme oranı, TG'da %33, KG'da %10 olarak saptanmıştır( $p<0.05$ ). HBV DNA düzeylerindeki değişiklikler her iki grupta kendi içinde karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır (TG için  $p=0.79$ , KG için  $p=0.64$ ). TG'da tedavi öncesi ve sonrası HBeAg/Anti-HBe serokonversiyonu %83 olarak bulunurken KG'da hiç serokonversiyon gözlenmedi ( $p<0.05$ ). Tedavi sonrası ölçülen ALT düzeyleri tedavi öncesine göre anlamlı şekilde düşük bulundu( $p<0.05$ ). Ayrıca tedavi öncesi ve sonrası biyopsi sonuçlarının karşılaştırılması ile de nekroinflamatuvar aktivitede anlamlı bir azalma saptanmıştır ( $p<0.05$ ).



**A37** **Hemodiyaliz Hastalarında TT Virus DNA Sıklığının Araştırılması**  
 H.Arslan<sup>1</sup>, F.Ergin<sup>1</sup>, N.Özdemir<sup>2</sup>, Z.Arat<sup>2</sup>, Ö.Tarakçı<sup>1</sup>

*Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Nefroloji Bilim Dalı<sup>2</sup>; Ankara*

TT Virus (TTV) ilk kez posttransfüzyon non A-G hepatiti olan hastaların serumundan izole edilen oldukça yeni bir virustur. Epidemiyolojik çalışmalar hemodiyaliz hastaları intravenöz ilaç kullananlar gibi parenteral bulaş riski olan hasta gruplarında TTV prevalansının normal popülasyona göre yüksek olduğunu göstermiştir. Bu çalışmanın amacı HD hastalarında ve kan donörlerinde serum TTV oranlarının belirlenmesidir. İki farklı primer seti kullanılarak Başkent Üniversitesi hastanelerinde takip edilmekte olan 80 hemodiyaliz (HD) hastasının serumlarında (TTV) genomunun varlığı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile araştırılmıştır. HD hastalarının serumları beşerli gruplar halinde havuzlandıktan sonra DNA saflaştırılmış ve PCR pozitif bulunan havuzlara ait serumlar tek başına çalışılarak TTV pozitiflik oranları belirlenmiştir. Ayrıca, kan donörlerine ait 160 serum örneği de benzer şekilde analiz edilmiştir. TTV DNA analizlerinde iki farklı primer seti (Primer set 1: Okamoto H. et al. Hepatol Res.1998; 10:1, Primer set 2: Simmonds et al. Lancet; 1998: 352:1915) kullanılarak, 250 µl serum örneğinden saflaştırılan 50 µl DNA'nın 10 µl'si nested-PCR amplifikasyonu yapılmış ve ampikonlar jel elektroforezde değerlendirilmiştir. Toplam 16 HD havuzunun primer set 1 ve 2 ile sırasıyla 6 ve 4'ünde TTV DNA saptanmıştır. Pozitif saptanan havuzlara ait serumlardan yapılan çalışmalarda ise sırasıyla toplam 7 (%8.4) ve 4 (%5) hastanın serumunda TTV DNA saptanmıştır. Donör havuzlarından ise set 1 ile PCR pozitifliği bir havuzda saptanmış ve bu havuzda bir serumda (%0.5) TTV DNA pozitif bulunmuştur. İki ayrı primer seti ile yapılan çalışma sonucunda farklı oranlar saptanmakla birlikte çalıştığımız iki farklı popülasyondan risk grubunda TTV pozitiflik oranı beklendiği gibi daha yüksek bulunmuştur.



**2. GÜN**

**(26 NİSAN 2000)**



B01

## ***Candida albicans* Salgısal Asit Proteinaz'ının İndüklenmesinde Vajinal Ortamda Bulunan Mikroorganizmaların Rolünün Araştırılması**

İ.Tosun<sup>1</sup>, F.Aydın<sup>1</sup>, M.Ertürk<sup>2</sup>, A.O.Kılıç<sup>1</sup>

*Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Trabzon,*

*Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>2</sup>, Samsun*

*Candida albicans* (*C.albicans*)'ın önemli virulans faktörlerinden biri olan salgısal asit proteinaz (Sap) konak dokuya adherensi başlatmakta ve mukozal invazyonu artırmaktadır. Bu enzimin indüksiyon ve ekspresyonu için, nitrojen kaynağı olarak proteinler veya peptidlerin bulunduğu asidik pH'daki ortamlar uygundur. Bu şartların bulunduğu vajinal ortam Sap enziminin indüksiyon ve ekspresyonu için çok elverişlidir. Bu çalışmada, vajinal ortamda bulunabilen mikroorganizmalardan *Lactobacillus* sp, *Gardnerella vaginalis*, HIV-1 ve HSV-2'nin Sap enziminin indüklenmesi üzerine olan etkileri araştırıldı. Sap aktivitesi pozitif üç *C.albicans* kökeninin amino asit ve amonyum sülfatsız "Yeast Nitrogen Base" içerisine ekimleri yapıldı ve kültürlerle nitrojen kaynağı olarak mikroorganizmalardan belirli miktarlarda ilave edildi. Kültür süpernatantındaki Sap aktivitesi süt tozu agaroz damlatma yöntemi ile test edildi. HIV-1 ilave edilmiş *C.albicans* kültür süpernatantlarında Sap aktivitesinin indüklendiği tespit edilirken, diğer mikroorganizmaların indüklediği saptandı.

**B02 "Pulsed-field gel Electrophoresis" (PFGE) ile Karyotiplendirilen *Candida glabrata*'nın Neden Olduğu Nozokomiyal Fungemi Salgını**

A.N.Koç<sup>1</sup>, S.Kocagöz<sup>2</sup>, F.Erdem<sup>1</sup>, Z.Gündüz<sup>3</sup>

*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı<sup>3</sup>, Kayseri.*

*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları Bölümü<sup>2</sup>, Ankara.*

Bu çalışmada Çocuk İntaniye Servisinde süt kaplarından kaynaklanan *Candida glabrata*'nın neden olduğu fungemi salgınının bildirilmesi ve antibiyotik tiplendirme ve "pulsed-field gel electrophoresis" (PFGE) karyotiplendirme kullanarak kaynağının ve risk faktörlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çocuk İntaniye Servisinde 1998 yılında iki ay boyunca 12 *Candida glabrata* suşuna bağlı fungemi olgusu görüldü. Salgın tehlikesinden dolayı klinikten infeksiyon odağı için örnekler alındı. Salgın döneminde aynı klinikte ve benzer klinik tanı ile yatan olgular kontrol grubu olarak incelendi. Aynı suşun süt kaplarından izole edilmesinden dolayı salgın kaynağı olduğuna karar verildi. İzolatlar, konvansiyonel yöntemlerle tanımlandı ve "pulsed-field gel electrophoresis" (PFGE) ile karyotiplendirildi. Olgulardan izole edilen suşların hepsi benzer antifungal duyarlılık paterni göstermekte, flukonazole dirençli, amfoterisin B'ye duyarlı idi. Suşların hepsi slime faktör kuvvetli pozitif idi. Salgın izolatları elektroforetik karyotiplendirme ile tek-krozomal patern gösterdi. Sonuç olarak, nozokomiyal fungemilerde, hastanede kalış süresinin ve ikiden fazla antibiyotik kullanımının önemli rol oynadığı belirlenmiştir. *Candida glabrata* suşları için PFGE ile karyotiplendirme faydalı bir moleküler tiplendirme yöntemi olarak görülmektedir.



B03

### Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (PCR) ve Heterodupleks Analizi ile Sistemik Mikozların Erken Tanısı ve Etkenin Tiplendirilmesi

B.Sancak, S.Arıkan, Ş.Özyavuz, D.Engin, T.Kocagöz

*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olan sistemik mantar enfeksiyonlarının, klinik belirti ve bulgularının yeterince özgün olmaması ve bugün için kullanımda olan konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemlerin tanıdaki yerinin kısıtlı olması nedeniyle hem tanısı hem de tedavisi oldukça zordur. Bu nedenlerden dolayı son yıllarda moleküler yöntemlerle erken tanı olanakları araştırılmaktadır. Bu çalışma, panfungal PCR ve heterodupleks analizi yöntemlerinin birarada kullanılmasının, enfeksiyon etkeni olan mantarın serum örneklerinde saptanmasındaki yerini belirlemek amacıyla planlanmıştır. Çalışmaya daha önce izole edilmiş *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus pusillus*, *Fusarium solani* ve *Candida albicans* suşları alınmıştır. Sabouraud dekstroz agarda üretilmiş olan izolatların ilave edildiği kan örneklerinden DNA ekstraksiyonu yapılmış, aynı primerler kullanılarak PCR yöntemi ile DNA varlığı araştırılmış ve daha sonra elde edilen DNA ürünlerine heterodupleks analizi yöntemi uygulanarak, bu DNA ürününün yukarıda adları verilmiş olan mantarlardan hangisine ait olduğu belirlenmeye çalışılmıştır. Sonuç olarak aynı primer çiftiyle *A.fumigatus*, *A.flavus*, *A.niger*, *R.pusillus*, *F.solani* ve *C.albicans* olmak üzere 6 tür mantarın rRNA gen bölgesi kan örneklerinden panfungal PCR ile saptanmıştır. Ayrıca, elde edilen DNA ürünlerine uygulanmış olan heterodupleks DNA analizi yöntemi sayesinde serumdan saptanmış olan mantarın hangi türe ait olduğunu söylemek mümkün olmuştur. Bu yöntemin, sistemik mantar enfeksiyonlarının tanısında hızlı, pratik ve güvenilir bir yöntem olduğu inancındayız.

B04

**Şanlıurfa'da Sıtma Tanısında ve Tür Saptanmasında PCR Yönteminin Kullanılması**

G.Aslan<sup>1</sup>, M.Ulukanlıgil<sup>1</sup>, T.Kocagöz<sup>2</sup>, S.Ergüven<sup>2</sup>, A.Seyrek<sup>1</sup>,  
A.Günalp<sup>2</sup>

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Şanlıurfa  
Hacettepe Üniversitesi Tıp fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>2</sup>, Ankara

Sıtma, tropikal ve subtropikal ülkelerde olduğu gibi ülkemizde halen önemli bir sağlık sorunudur. Sıtma tanısında ve tür tayininde klasik olarak mikroskopik tanı yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerle, parazit sayısı az olan olgular ve düzensiz ilaç kullanan olgularda tanı güçleşmektedir. Çalışmamızda *Plasmodium* varlığını kanda saptayabilecek bir PCR'la DNA amplifikasyon yöntemi ve amplifikasyon ürününün restriksiyon enzim analizi ile türünün saptanmasını sağlayacak bir yöntem geliştirdik. Sıtma şüpheli hastaların kan örneklerinden izole edilen *Plasmodium* DNA'sı PCR ile çoğaltıldıktan sonra Alul restriksiyon enzimi ile kesildi. Elde edilen DNA ürünleri agaroz jel elektroforezi ile değerlendirildi. Ülkemizde özellikle Güney Doğu Anadolu bölgesinde epidemik olarak görülen *P.vivax*'ın etken olduğu sıtma tanısı yanında, zaman zaman ülkemizde bildirilen *P.vivax* dışı *Plasmodium* türlerinin belirlenmesinde bu yöntemin kullanımının faydalı olacağı kanısındayız.



B05

## Giardiasis Tanısında Dışkıda ELISA Yöntemiyle GSA-65 Antijeni Araştırılması ve Ornidazol (Biteral®) ile Metronidazol (Flagyl®) Sağaltımlarının Karşılaştırılması

A.T.Tamay<sup>1</sup>, P.Ertan<sup>2</sup>, K.Yereli<sup>2</sup>, A.Onağ<sup>2</sup>, A.Özbilgin<sup>1</sup>

*Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı<sup>2</sup>, Manisa*

Çalışmamızda giardiasisin tanısında dışkıda ELISA yöntemiyle GSA-65 antijeninin özgüllüğü ve duyarlılığı araştırılmış, hastaların sağaltımında ornidazol ve metronidazol kullanılarak sonuçlar karşılaştırılmıştır. Parazitoloji polikliniğinde giardiasis tanısı konan 2-15 yaş arası 50 çocuk hasta grubu olarak, sağlıklı 50 çocuk ise GSA-65 antijeni aramalarında kontrol grubu olarak çalışmaya alınmıştır. Hasta ve kontrol grubunda olan 50'şer çocuğun dışkılarına GSA-65 antijeni aramaya yönelik Giardia testi (RIDASCREEN®-R-Biopharm™ Inc.) uygulanmıştır. Giardiasisli çocuklardan 25'ine 5 gün süreyle 25 mg/kg/gün 2 doza bölünmüş olarak ornidazol (Biteral®- Roche™ 250 mg/kg tablet), 25'ine 7 gün süreyle 20 mg/kg/gün 3 doza bölünmüş olarak metronidazol (Flagyl®-Rhone/Poulenc™ 125 mg/ 5 ml) sağaltımı uygulanmıştır. Tüm hastalar sağaltım bitiminden sonra 7., 10., ve 14. günlerde kontrole çağrılmış, mikroskopik yöntemlerle sağaltım etkinliği araştırılmıştır. Tanıda kullanılan dışkıda GSA-65 antijeni arayan yöntemin duyarlılığı %92, özgüllüğü %98 olarak bulunmuş, metronidazol ile %80 (20/25) ve ornidazol ile %96 (24/25) oranında parazit eradikasyonu saptanmıştır. Sağaltımı tamamlanan tüm olgularda klinik yakınmaların ortadan kalktığı gözlenmiştir. Sonuç olarak, giardiasis tanısında dışkıda GSA-65 antijeni arayan ELISA yönteminin kullanılabileceği ve sağaltımında ornidazol tedavisinin metronidazol tedavisine göre daha etkili olduğu kanısına varılmıştır.



B06

**Konjenital Toxoplazmozisin Prenatal ve Erken Postnatal Tanısının Değerlendirilmesi**S.Tanrıverdi<sup>1</sup>, K.Özcan<sup>1</sup>, F.T.Özgüven<sup>2</sup>, A.Çürük<sup>3</sup>*Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Kadın-Doğum Anabilim Dalı<sup>2</sup>, Biyokimya Anabilim Dalı<sup>3</sup> Balcalı, Adana*

Aralık 1998-1999 tarihleri arasında Ç.Ü. Tıp Fakültesi Kadın-Doğum polikliniğine konjenital toksoplazmoz şüphesiyle başvuran 19 hamile kadın çalışmaya alındı. Hastaların yaş ortalaması  $37\pm 0.5$  idi. Hastaların serumlarında latex aglütinasyon (LA) ve indirekt hemaglütinasyon (IHA) testleri ile total *Toxoplasma* antikoru, Enzyme Linked ImmunoAssay (ELISA) ve indirekt floresan antikor testi (IFA) ile de *Toxoplasma* IgG ve IgM antikoru varlığı araştırıldı. Amniyon sıvılarında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile *Toxoplasma* DNA'sının varlığı araştırıldı ve örnekler albino (Swiss webster) farelere inoküle edildi. ELISA ile 19 hastanın 19'unda yüksek titrelerde IgG antikor belirlendi. 19 hastanın 17'sinde IgM antikor pozitifken, 2 hastada negatif bulundu. Ortalama 2-4 hafta sonra yapılan ikinci serolojik incelemede 5 hastada hem ELISA hem de IFA testiyle IgM antikor pozitifliği saptanırken, 1 hastada yalnızca ELISA IgM pozitifliği belirlendi. İkinci serolojik inceleme sırasında daha önce ELISA IgG ve IgM antikoru pozitif bulunan 1 hastanın serumunda tüm testlerle negatif sonuç elde edildi. Diğer 18 hastanın 18'inde de IHA, LA, ELISA IgG ve IFA IgG testleri ile antikor pozitifliği belirlendi. Amniyosentez yapılan 8 hastanın 2'sinde PCR ile *Toxoplasma* DNA'sı saptandı. Örneklerin hiçbirinde fare inokülasyonu ile üreme olmadı. Çalışmaya alınan 19 hastanın 1'i düşük ve 1'i ölü doğum yaptı. PCR ve IgM pozitifliği belirlenen 1 hastanın gebeliği kendi isteğiyle sonlandırıldı. Doğumdan sonraki bebek takiplerinde; 1 bebeğin 5 aylıkken *Toxoplasma* antikor negatifleşirken, doğumdan sonra titresi düşmekte olan 2 bebek halen takip edilmektedir. Sonuç olarak, konjenital toksoplazmozun ortaya çıkarılabilmesi için seronegatif hamilelerin gebelikleri boyunca belli aralıklarla incelenerek, serokonversiyon saptananlara prenatal tanı yapılması ve riskli yenidoğanların doğumdan sonra 6 ay-1 yıl süreyle izlenerek infeksiyonun olup olmadığının ortaya çıkarılması önemlidir.



**B07** Gebelikte Görülen İntrauterin Enfeksiyonlar ve Konjenital Sendromlar: Düşük Yapmış Kadınlar ve Doğurgan yaş Grubundaki Kadınların Bağışıklık Durumu

S.Şeker, M.F.Abasıyanık, B.Salih

*Fatih Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İstanbul*

Gebeliğin ilk trimesterinde, kızamıkçık yönünden bağışık olmayan kadınların kızamıkçık virusu ile enfekte olması doğacak bebekte bazı konjenital anomalilerin oluşmasına sebep olabilir. Bu çalışmanın amacı, düşük yapmış kadınlar ve doğurgan yaş grubundaki kadınların kızamıkçık IgG ve IgM antikor düzeylerini saptamaktır. Bu amaçla A grubunda (yaş:20-41) 48 evli, B grubunda (yaş:18-30) 19 bekar olmak üzere toplam 67 kadından serum örneği alınmıştır. A grubundaki olguların 27'si gebe olup, düşük öyküleri (+) olan olgulardır. Ayrıca A grubunda bir olgu da çalışma sırasında düşük yapmıştır. Düşük yapan bu olguda IgM (+), IgG düzeyi ise 55 IU/ml olarak bulunmuştur. Gebe olan 27 olgunun IgG düzeyleri 42-121 IU/ml (ortalama=88 IU/ml) olup 5 olguda IgM (+)'dir. A grubundaki diğer 20 olguda ise IgG düzeyi 37-129 IU/ml (ort.=96 IU/ml) olarak saptanıp, IgM (-) olarak bulunmuştur. Serum örnekleri ayrıca toksoplazma ve sitomegalovirus antikorları yönünden de taranmış ve hepsi IgM (-), IgG ise %89 (+) bulunmuştur. Sonuç olarak, doğurgan yaş grubundaki kadınlarda IgG düzeyinin büyük oranda farklılık gösterebildiği saptanmıştır. IgG koruyucu düzeyi >50 IU/ml olarak belirtilmektedir. Buna göre bu çalışmada %10 kadının <50 IU/ml düzeyde IgG antikoruna sahip olduğu gözönüne alınırsa, kızamıkçığa karşı aşılamanın önemi vurgulanabilir.

B08

## Bacillus Türleri Üzerine Değişik Tuz Konsantrasyonlarında *Lactobacillus helveticus*'un İnhibitör Etkisi

G.Uraz<sup>1</sup>, S.Arslan<sup>1</sup>, Y.Maraş<sup>2</sup>

Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü,  
Mikrobiyoloji<sup>1</sup>, Ankara

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü<sup>2</sup>, Ankara

Araştırmamızda, 19 *Bacillus* türüne karşı *Lactobacillus helveticus*'un inhibitör etkisi çalışılmıştır. Bu amaçla Nutrient ve BHI Agar besiyerine %4, %4.5, %5, %5.5, %6, %6.5 konsantrasyonlarda NaCl ilave edilerek inhibitör etkileri kuyu difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. Nutrient agardaki artan tuz konsantrasyonlarında *Bacillus* türlerine karşı *L.helveticus*'un inhibisyon zon çapları en büyük değere ulaşmıştır. Bununla beraber bazı *Bacillus* türleri %6 ve %6.5 tuz konsantrasyonlarında gelişme göstermemiştir. *L.helveticus*'un en iyi inhibitör aktiviteyi *B.firmus* ve *B.stearothermophilus*'a karşı gösterdiği gözlenmiştir. *B.cereus*, *B.subtilis*, *B.coagulans*, *B.brevis*, *B.mycoides*, *B.polymxa* türlerinin %6 ve %6.5 NaCl konsantrasyonları dışındaki tüm konsantrasyonlarda inhibisyon zonlarının giderek arttığı tesbit edilmiştir. Aynı tuz konsantrasyonlarının BHI Agara ilave edilmesiyle test sonuçları değerlendirilmiştir. İki besiyeri arasında bir kıyaslama yapıldığında BHI Agarda bulunan glikozun *Bacillus* türlerinin üremesini etkilediği görülmüştür. Sonuç olarak *L.helveticus*'un inhibitör aktivitesi *Bacillus* türlerinin üremesinin yetersizliği nedeniyle gözlenmemiştir. Bununla beraber *L.helveticus*'un en iyi inhibitör aktivitesi Nutrient Agarda *Bacillus* türlerine karşı gözlenmiştir.



B09

## Çiğ Sütten Elde Edilen *Bacillus* Türlerinin *Listeria monocytogenes* ve Diğer Bakteriler Üzerine Değişen Tuz ve Glikoz Konsantrasyonlarında İnhibitör Etkileri

G.Uraz<sup>1</sup>, H.Binnet<sup>2</sup>

Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü,  
Mikrobiyoloji<sup>1</sup>, Ankara

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü<sup>2</sup>, Ankara

Araştırmada, 195 çiğ süt örneğinden 33 *Bacillus* izole edilerek adlandırılması yapılmıştır. İzole edilen *Bacillus*'ların *Listeria monocytogenes* (680 x *L.monocytogenes* 2167 type I) üzerine inhibitör etkileri çalışılmıştır. Bu amaçla, BHI besiyerine %2, %2.5, %3, %3.5, %4 konsantrasyonlarda NaCl ve diğer BHI besiyerine %2, %2.5, %3, %3.5, %4, %4.5 konsantrasyonlarda glikoz ilave edilerek besiyerine daldırma yöntemi (spot on the lawn) ile inhibitör etki değerlendirilmiştir. *Listeria monocytogenes* üzerine tuz ve glikoz ilavesinin olmadığı BHI besiyerine *Bacillus* türleri inhibitör etki göstermemiştir. Artan tuz ve glikoz konsantrasyonlarında *B.brevis*, *B.cereus*, *B.lentus*, *B.coagulans*, *Bmegaterium*, *B.mycoides*, *B.sphaericus*, *B.stearothermophilus* ve *B.subtilis* türlerinin *L.monocytogenes* üzerine inhibitör etkisi gözlenmiştir. İzolasyonu gerçekleştirilen *B.circulans*, *B.macerans*, *B.licheniformis*, *B.polymxa* türlerinin tüm ortamlarda *L.monocytogenes* üzerine inhibitör etki göstermediği tesbit edilmiştir. %3.5 glikoz konsantrasyonunda *L.monocytogenes*'e karşı 2 *B.coagulans*'ın inhibitör etkisi gözlenirken, aynı şekilde *B.stearothermophilus*'un da inhibitör etkisi bu konsantrasyonda gözlenmiştir. Artan glikoz konsantrasyonunda *Bacillus* türlerinin *L.monocytogenes* üzerine inhibitör etkileri %4 glikoz konsantrasyonundan sonra gözlenememiştir. Bununla birlikte glikoz konsantrasyonu arttıkça doğru orantılı olarak *Bacillus* türlerinin inhibisyon zon çaplarının da arttığı tesbit edilmiştir. Değişen tuz ve glikoz konsantrasyonlarında *L.monocytogenes* üzerine aynı *Bacillus* türlerinin inhibitör etki oluşturduğu ve zon çaplarının tuz konsantrasyonunda azalırken, glikoz konsantrasyonunda arttığı bulunmuştur. Ayrıca çalışmamızda 33 *Bacillus* türünün *Streptococcus fecalis*, *Streptococcus lactis*, *E.coli* K12, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia enterocolitica* üzerine aynı tuz ve glikoz konsantrasyonlarında inhibitör etkileri de araştırılmıştır. Ancak bu bakteriler üzerine hiçbir *Bacillus* türünün inhibitör etki göstermediği tesbit edilmiştir.



B10

**Kendi Kendine Pasaj Yapan Kan Kültür Sistemi**T.Kocagöz, D.Engin.*Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

Kanda bakteri olması, ivedilikle tedavi edilmesi gereken ciddi bir enfeksiyonu gösterir. Bakteriyemi tanısı yaygın olarak kan kültürü yapılarak konmaktadır. Otomatik kan kültür sistemleri sıvı besiyeri kullanmakta ve üreme saptanır saptanmaz, bakteri türünün belirlenmesi için katı besiyerine pasaj yapılmaktadır. Pasaj yapılmakta gecikilecek olursa, *Streptococcus pneumoniae* gibi bakteriler otoliz ile ölmekte ve izolasyon şansı azalmaktadır. Bu sorunları gidermek için sıvı besiyerinde üreme olur olmaz, kendi kendine pasaj yapan bir kan kültür sistemi geliştirdik. Bu sistemde sıvı besiyeri içeren bir şişeye kan örneği eklendikten sonra ağzı sıkıca kapatılan şişe içerisine steril bir boru uzatılarak, sıvı besiyeri içerisine daldırılmaktadır. Bu borunun diğer ucu yatık olarak hazırlanmış, bir veya birden fazla besiyeri üzerine uzatılmaktadır. Sıvı besiyerinde üreme, gaz çıkışına neden olmakta ve basınç artışı ile besiyeri boru içerisinde yükselmekte ve diğer besiyerleri üzerine damlamaktadır. Böylece kendi kendine pasaj yapılan kültür sisteminde, örneğin kanlı agar gibi bir besiyerinde, hemoliz özellikleri kolayca gözlenerek erken tanı konabilmektedir. Bu sistem pasaj borusunun iki yanına eklenecek bir elektrot aracılığı ile sıvı geçisi, yani üremenin saptandığı otomatik bir sistem haline getirilebilecektir.



**B11 Kronik Larenjit Etiyopatogenezinde *Helicobacter pylori*'nin Rolü**S.Köybaşı<sup>1</sup>, D.Engin<sup>2</sup>, T.Egesel<sup>3</sup>, Y.Akyön<sup>2</sup>, A.Günalp<sup>2</sup>, S.Kaya<sup>1</sup>*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>2</sup>, Gastroenteroloji Bölümü<sup>3</sup>, Ankara*

*Helicobacter pylori*, peptik ülser ve gastrik malignansilerin de içinde bulunduğu bir grup gastroduodenal hastalıktan sorumlu tutulmaktadır. Fekal oral, oral oral ve yeterince temizlenmeden kullanılan endoskoplarla bulaş olduğu en çok kabul edilen hipotezlerdir. Laringeal kolonizasyonun *H.pylori* bulaşında önemli bir basamak olabileceği düşünülerek bu çalışmada, gastroözefagial reflusu ve kronik larenjiti olan hastalardan alınan larinks ve mide biyopsi örnekleri mikrobiyolojik ve moleküler yöntemlerle incelendi. Sigara ve alkol kullanmayan, kronik farenjit ve larenjit semptom ve bulguları olan, riniti ya da sinüziti bulunmayan, gastroözefagial reflü tanısı almış 15 hasta çalışmaya dahil edildi. Direkt laringoskopiyle interaritenoid bölgeden ve üst gastrointestinal endoskopiyle antrumdan ikişer biyopsi alındı. Parçalardan biri doku eziciyle homojenize edildi. Beyin kalp infüzyon agarında kültürü yapıldı. Kültürler 37°C'de mikroaerofilik ortamda 7 gün bekletildi. Doku homojenatlarından DNA ekstraksiyonu yapılarak polimeraz zincirleme tepkimesi ile ureA geni saptandı. Alınan diğer parçalardan hazırlanan yaymalar Giemsa ile boyanarak mikroskopta *H.pylori* varlığı açısından incelendi. On beş hastaya ait mide örneklerinin 8'i kültürle, 10'u polimeraz zincirleme tepkimesiyle, 11'i yayma incelemesiyle *H.pylori* açısından pozitif bulundu. Larinks örneklerinin hiçbirisinde bu yöntemlerle *H.pylori* varlığı gösterilemedi.



B12

**Dispeptik Olgularda *Helicobacter Pylori* Anti-CagA ve Anti-VacA Antikorlarının Saptanmasında İmmünblot Testlerinin Yeri**  
M.F. Abasıyanık<sup>1</sup>, A.Acar<sup>2</sup>, E.Sander<sup>3</sup>, B.Salih<sup>1</sup>

*Fatih Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İstanbul*<sup>1</sup>  
*SSK Okmeydanı Hastanesi Endoskopi Ünitesi*<sup>2</sup>  
*SSK Samatya Hastanesi Endoskopi Ünitesi, İstanbul*<sup>3</sup>

*Helicobacter pylori* peptik ülserle neden olan bir etken olarak ileri sürülmektedir. Bu bakteriye ait virülans faktörlerinden olan CagA ve VacA'nın, hastalığın patogenezi ve kliniğinde rolü olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı, dispeptik olgularda ELISA yöntemiyle anti-CagA ve anti-VacA antikorlarını saptamak ve bunların varlığının peptik ülserle ilişkisini belirlemektir. Bu amaçla, yaşları 16-80 arasında olan ve SSK Okmeydanı ve Samatya Hastaneleri'nde endoskopi yapılan 45 olgu (26 erkek, 19 kadın) çalışmaya alınmıştır. CLO testi, kültür ve histopatolojik incelemeler için her hastadan beşer adet antral biyopsi örneği ve aynı zamanda serum örneği alınmıştır. CLO testi ve histopatoloji sonucu (+) olan 39 olgunun 32'sinde ELISA ile (+) sonuç alınmıştır. ELISA testinin duyarlılığı %82, özgüllüğü %83, pozitif prediktif değeri %97 ve negatif prediktif değeri %42 olarak belirlenmiştir. "Western blot" yöntemiyle 116 kDa'luk CagA ve 89 kDa'luk VacA bantları araştırılmış ve 3 olgu (%10) VacA (+) bulunmuştur. Sonuç olarak, *H.pylori* antikorlarının saptanmasında ELISA testi yararlı bir yöntem olarak bulunmuştur. Anti-CagA antikorlarının varlığı ile duodenal ülser (%83), gastrit (%78), gastrik kanser (%100) ve gastrik ülser (%100) oluşumu arasında anlamlı bir ilişki saptanmış olup, bu da CagA'nın peptik ülser patogeneziindeki rolünü daha da desteklemektedir.



B13

***Helicobacter pylori* Tanısında Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Kültür Yöntemlerinin Karşılaştırılması**Y.Bulut<sup>1</sup>, A.Kizirgil<sup>1</sup>, A.Kalkan<sup>2</sup>, İ.H.Bahçecioglu<sup>3</sup>, M.Z.Doymaz<sup>1</sup>

*Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>2</sup>, İç Hastalıkları Anabilim Dalı<sup>3</sup>, Elazığ*

Bu çalışmada, *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) tanısında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile kültür yöntemlerinin karşılaştırılması amaçlandı. Endoskopik inceleme ile 70 hastadan biyopsi örnekleri alındı. Kültür için "*Helicobacter* Selective Supplement" içeren at kanlı Columbia Agar ve PCR için kromozomal DNA üzerinden rasgele seçilen dizilimlere karşı gelen primerler kullanıldı. Hastaların %32.8'inin (23/70) kültüründe *H.pylori* izole edildi. Örneklerin %77.1'inde (54/70) PCR ile hedef DNA belirlendi. Bu sonuçlara göre, PCR yönteminin duyarlılığı %100, özgüllüğü %36.4, pozitiflik tahmin değeri %50, negatiflik tahmin değeri ise %100 olarak hesaplandı.



B14

## Bronşiyal Astmalı Türk Çocuklarının Boğaz Sürüntüsünde Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile Adenovirus, *Chlamydia pneumoniae* ve *Mycoplasma pneumoniae* Araştırılması

C.Saçkesen<sup>1</sup>, A.Pınar<sup>2</sup>, Y. Akyön<sup>2</sup>, A.Günalp<sup>2</sup>, Y.Saraçlar<sup>1</sup>

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Allerji ve Astma Ünitesi<sup>1</sup>, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>2</sup>, Ankara

Çocukluk çağı bronşiyal astma gelişiminde viral patojenlerin, adolesan ve erişkin dönemin bronşiyal astma gelişiminde ise atipik bakteriyel patojenlerin üstlendiği rol henüz tam aydınlatılamamıştır. Üst solunum yolu enfeksiyonlarının %65'inden Rhinovirus, %15'inden Coronavirus ve %20'sinden Influenza, Parainfluenza, Respiratory Syncytial Virus ve Adenovirus sorumludur. Alt solunum yolu enfeksiyonlarında ise bronşitlerin %5'inden ve toplumdan edinilmiş pnömonilerin %10-15'inden *Chlamydia pneumoniae* sorumludur. Atipik pnömonilerin en sık karşılaşılan sorumlusu ise *Mycoplasma pneumoniae*'dir. Kronik obstrüktif akciğer hastalıklarında ve bronşiyal astmada Adenovirus ve *C.pneumoniae*'nin persistan latent akciğer enfeksiyonu oluşturmaları, bronş ağacını enfekte ederek siliyer işlev bozukluğu ile epitel hasarına neden olmaları ve sitokin üretimine yol açmaları, bronşiyal astma olgularında öncelikle bu ajanların araştırılmasını gündeme getirmiştir. Bu çalışmada pediatrik yaş grubunda *C.pneumoniae*, *M.pneumoniae* ve Adenovirus varlığı güvenilir fakat invaziv olmayan bir yöntemle araştırılmıştır. Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Pediatrik Allerji ve Astma Ünitesi tarafından tekrarlayan vizing ve bronşiyal astma tanısı ile izlenen ve semptomatik dönemde olan yaşları 0-19 arasında 55 olgu, asemptomatik dönemde olan 28 bronşiyal astma olgusu, bronşiyal astma tanısı almamış ve üst ya da alt solunum yolu enfeksiyonu bulunmayan 27 olgu olmak üzere toplam 110 olgudan nazofaringeal sürüntü örneği toplanmış ve PCR ile *C.pneumoniae*, *M.pneumoniae*, Adenovirus araştırılmıştır. Semptomatik 55 olgunun 37'sinde (%67.2), bronşiyal astmalı fakat asemptomatik 28 olgunun 8'inde (%28.5) ve bronşiyal astma ya da solunum yolları enfeksiyonu bulunmayan 27 olgunun 10'unda (%37.0) Adenovirus DNA'sı saptanmıştır. Olguların hiçbirinde *C.pneumoniae* veya *M.pneumoniae* saptanmamıştır. Sonuç olarak özellikle tedaviye dirençli bronşiyal astmalı çocuklarda Adenovirus daha detaylı olarak araştırılması önerilebilir.



B15

## Yetişkin Periodontitisli Hastalarda Etken Bakterilerin PCR ile Tanısı

Ö.Y.Torun<sup>1</sup>, A.O.Kılıç<sup>1</sup>

*Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Trabzon*

Yetişkin periodontitis, primer olarak bakteriler tarafından meydana getirilen aynı zamanda periodonsiyumda yıkım-tamir süreçlerinin birbirini izlediği bir dizi enflamatuvar olaylar ile karakterize bir periodontal doku hastalığıdır. Klinik tanıya göre uygulanan tedavilerden başarılı sonuçlar elde edilmekle birlikte, özellikle risk grubundaki bireylerin belirlenmesinde patojen bakterilerin tanısının önemi ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmada, yetişkin periodontitisin muhtemel patojenleri arasında yer alan *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa), *Prevotella intermedia* (Pi), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Bacteroides forsythus* (Bf), *Eikenella corrodens* (Ec), *Fusobacterium nucleatum* (Fn), *Peptostreptococcus micros* (Pm), *Streptococcus intermedius* (Si), *Treponema denticola* (Td) ve *Campylobacter rectus* (Cr) türlerinin tanısında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanıldı. Klinik olarak yetişkin periodontitis tanısı konmuş 24 hasta ile 10 sağlıklı bireye ait subgingival plak örnekleri PCR ile test edilerek subgingival mikrobiyal profilleri karşılaştırıldı. Aa, Pi, Pg, Bf, Ec, Fn, Pm, Si, ve Cr'un hasta grubunda, kontrol grubuna oranla anlamlı derecede ( $p<0,05$ ) daha sık bulunduğu saptandı ve PCR yönteminin özellikle kültürü zor ve zaman alıcı anaerobik periodontopatojen bakterilerin tanısında uygun bir yöntem olarak kullanılabileceği gösterildi.



B16

**Brucella spp. nin İdentifikasyonunda Polimeraz Zincir Reaksiyonu'nun Kullanımı**

L.Güler, K.Gündüz, Ü.Ok, A.Öztürk

*Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Konya*

Bruselloz ülkemizdeki koyun, keçi ve sığır abortuslarının önde gelen nedenidir. İnsanlarda brusellozun önlenmesi, hastalığın hayvanlarda kontrol ve eradikasyonuna, bu da etkenin doğru ve çabuk tanımlanmasına bağlıdır. Son yıllarda özgül, çabuk, düşük maliyetli ve canlı mikroorganizmaya gerek duyulmayan bir yöntem olan PCR, bruselloz tanısında da umut vermektedir. Bu çalışmada herbiri farklı sürülerden 22 atık koyun fötüsü, 3 koyun sütü, 1 atık inek fötüsü ve 1 insan kanından izole edilen 27 *Brucella* suşu PCR yöntemi ile identifiye edildi. IS711 olarak adlandırılan *Brucella* genomunda bulunan ve tür-spesifik bir yerleşime sahip olan, tekrarlayan bir genetik elemente dayanan bir PCR yöntemi kullanıldı. Test edilen suşların 26'sı *B.melitensis* için spesifik band verirken atık inek fötüsünden izole edilen 1 suş herhangi bir band vermedi. Kullanılan PCR yöntemi, *B.melitensis*'in 3 biyovarını, *B.abortus*'un ise biyovar 1, 2 ve 4'ünü tespit edebilmektedir. Bu nedenle klasik yöntemlerle *B.abortus* bv. 3 olarak identifiye edilen bir suş diğer bir PCR yöntemi ile hem doğrudan mide içeriğinin hem de izole edilen suşun analizi ile *Brucella* spp. olarak tespit edildi. Klasik identifikasyon sonucu PCR ile *B.melitensis* olarak identifiye edilen 25 koyun suşunun 1'i ve 1 insan suşu *B.melitensis* bv.1, 24 suş ise *B. melitensis* bv.3 olarak identifiye edildi. Standart *B.melitensis* (16 M) ve *B.abortus* (544) suşları ile yapılan seri dilüsyonların test edilmesi sonucu testin sensitivitesi 4/μl bakteri olarak tespit edildi. DNA ekstraksiyonuna gerek olmadan doğrudan ölü bakteri süspansiyonunun kullanıldığı yöntemin klinik materyallere uygulanması sonucu olumlu sonuçlar alınmasına rağmen, en uygun DNA ekstraksiyon yöntemi konusunda çalışmalarımız devam etmektedir.



B18

## Enterokoklarda Tür İdentifikasyonunda İntergenik Ribozomal PCR Yöntemi İle API 20 Strep Yönteminin Karşılaştırılması

Y.Ersoy<sup>1</sup>, E.Sönmez<sup>1</sup>, H.J.Young<sup>2</sup>, K.McGregor<sup>2</sup>, Y.Bayındır<sup>1</sup>

*İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Bakteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Malatya.*

*Dundee Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>2</sup>, İskoçya.*

Son yıllarda 16S-23S rRNA genleri arasındaki intergenik bölgenin PCR ile amplifikasyonu (ITS PCR), enterokokların tür düzeyinde identifikasyonunda kabul edilebilir bir yöntem haline gelmiştir. Bu çalışmada ITS PCR yöntemi ile API 20 Strep yönteminin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Turgut Özal Tıp Merkezinde yatarak tedavi gören ve poliklinik hastalarından elde edilen klinik örnekler ve dışkı kültürlerinden izole edilmiş 100 enterokok suşu çalışmaya alınmıştır. API 20 Strep ile ITS PCR yöntemine ilave olarak biyokimyasal testler tür identifikasyonunda kullanılmıştır. Her iki test ile 51 suş *Enterococcus faecalis*, 25 suş *E.faecium* olarak saptanmıştır. Fakat API ile *E.faecium* olarak saptanan 6 suş, ITS PCR ile *E.faecalis* olarak tespit edilirken, API ile *E.faecium* olarak saptanan 3 suş ise, ITS PCR ile *E.gallinarum* olarak tespit edilmiştir. Her iki test arasındaki uyumluluk % 76 olarak bulunmuştur. Bu veriler günümüzde yaygın olarak kullanılmakta olan API 20 Strep testlerinin enterokoklarda tür identifikasyonunun belirlenmesinde duyarlılığının beklenenden düşük olabileceğini akla getirmektedir. Ayrıca, ITS PCR yönteminin PCR laboratuvarı olan merkezlerde kullanımının sanıldığı gibi aksine daha ekonomik olabileceği görüşüne varılmıştır.

**B19 Kan, Yara ve Bitki Örneklerinden İzole Edilen *Acinetobacter calcoaceticus* Suşlarının Yağ Asit Profillerinin Kıyaslı İncelenmesi**

A. Özbek<sup>1</sup>, F. Şahin<sup>2</sup>, H.Uslu<sup>1</sup>

*Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi<sup>2</sup>, Erzurum*

*Acinetobacter* cinsi bakterilerin bitkiler üzerinde saprofit olarak bulunduğu, insanlar için ise fırsatçı patojen olduğu bilinmektedir. Biz bu çalışmada, bitkide saprofitken insanda patojen olan aynı tür bakterinin değişik kökenli suşları arasındaki olası farklılıkları, yağ asit profillerini kıyaslayarak araştırmayı amaçladık. Bu amaçla 1999 yılı içinde klinik (kan ve yara) örneklerinden izole edilen toplam 160 ve bitki örneklerinden izole edilen 143 bakteri suşunun tanısı, "Mikrobiyal İdentifikasyon Sistem" kullanılarak, yağ asidi profillerine göre yapıldı. *Acinetobacter calcoaceticus* olarak tanımlanan toplam 15 bakteri suşuna (5'i kan, 2'si yara, 8'i bitki kökenli) ait yağ asidi profilleri karşılaştırıldı. İncelenen suşlarda en az 15, en çok 21 değişik yağ asidinin bulunduğu görüldü. Bulgular, çalışmamızdaki *A. calcoaceticus* suşlarının bitki, yara ve kan kaynaklı olmalarına göre 3 farklı grup altında sınıflandırılabileceğini gösterdi. Bu grupların birbirinden ayrılmasında 17:1 w8c ve 18:1 w7c yağ asitlerinin yüzde oranlarının önemli olduğu saptandı. Bitki kaynaklı suşlarda 17:1 w8c ve 18:1 w7c yağ asitlerinin yüzde miktarı sırasıyla 0.50-0.80 ve 4.5-5.0, kandan izole edilenlerde 6.0-6.5 ve 19.0-21.5, yaradan izole edilenlerde ise 8.5-9.7 ve 0.50-0.80 olduğu gözlemlendi. Sonuçlar klinik izolatların bitkilerde saprofit olan izolatlardan farklı olduğunu gösterdi. Ayrıca kan ve yara izolatlarının da birbirinden farklı olduğu saptandı.



**B20** ***Stenotrophomonas maltophilia*'nın PCR ile Epidemiyolojik Tiplendirilmesi**B.Şener<sup>1</sup>, Ö.Köseoğlu<sup>1</sup>, D.Gür<sup>2</sup>, T.Kocagöz<sup>1</sup>, A.Günalp<sup>1</sup>*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı<sup>2</sup>, Ankara*

Son yıllarda *Stenotrophomonas maltophilia* suşları ile oluşan nozokomiyal kolonizasyon ve enfeksiyonlarda artış izlenmektedir. Bu çalışmanın başlıca amacı, hastanemizde yatan çocuk yaş grubu hastalardan izole edilmiş *S.maltophilia* suşlarının AP-PCR ve ERIC-PCR yöntemleri kullanılarak moleküler epidemiyolojisini incelemektir. Kasım 1998 - Aralık 1999 tarihleri arasında 21 hastadan izole edilen 22 *S.maltophilia* suşu çalışıldı. İzolatlar, BBL Kristal İdentifikasyon Sistemleri ile tanımlandı ve antimikrobiyal duyarlılıkları disk difüzyon testi ile belirlendi. Genotiplendirme, AP-PCR için M13 primeri, ERIC-PCR için Eric I ve II primerleri kullanılarak yapıldı. Öncelikle örnekler konvansiyonel AP-PCR yöntemiyle amplifiye edildi ve amplifikasyon ürünleri elektroforez ile analiz edildi. Ayrıca, örnekler "light cyclers" da da AP-PCR ile amplifiye edilerek, elde edilen ürünler erime eğrilerine göre incelendi. Elde edilen band paternleri genetik ilişkinin derecesini belirlemek üzere karşılaştırıldı. 22 izolat arasında, AP-PCR ve ERIC-PCR (Eric II) ile 14 farklı DNA profili saptandı. Sonuçlar, yüksek oranda tekrarlanabilirlik gösterdi. Ancak, Eric I ile amplifikasyon sonucu, düşük ayırım yeteneği ve zayıf tekrarlanabilirliği olan 22 farklı profil ortaya çıktı. İki adet ikili, üç adet üçlü hasta grubunun kendi içlerinde aynı profili gösterdiği, kalan 9 izolatın ise farklı genotiplerde bulunduğu saptandı. Genetik olarak benzerlik gösteren bazı suşların, benzer antibiyotik duyarlılık paterni gösterdiği ve aynı gün, aynı serviste yatmakta olan farklı hastalardan izole edildiği saptandı. Aynı benzerlik, "light cyclers" da elde edilen erime eğrileri incelendiğinde de belirlendi. Sonuç olarak, AP-PCR ve ERIC-PCR hastane enfeksiyonlarında izole edilen *S.maltophilia* suşlarının genotiplendirilmesinde hızlı bir tarama testi olarak öncelik taşımakta olup bu enfeksiyonların epidemiyolojik araştırmalarında yararlı bir yöntem olarak hizmet verebilir.

B21

***Pseudomonas aeruginosa* suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları, Plazmid Profilleri ve RAPD-PCR Analizleri** L.Açık<sup>1</sup>, A.Küçükaraarslan<sup>2</sup>, A.Çelebi<sup>1</sup>, Ö.Koru<sup>2</sup>

Gazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fak., Eiyoloji Bölümü,  
Teknikokullar<sup>1</sup>, Ankara  
GATA, Mikrobiyoloji Bölümü<sup>2</sup>, Ankara

Çeşitli hastalardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları, plazmid profilleri ve "Random Amplified Polymorphic DNA – PCR" (RAPD-PCR) analizleri ile tiplendirilmesi amaçlandı. Antibiyotik duyarlılıkları Kirby Bauer disk difüzyon metodu ile antibiyotik diskleri (Mast Diagnostic) kullanılarak belirlendi. *P.aeruginosa* suşlarından kromozomal DNA ve plazmid DNA izolasyonları yapıldı. Rastgele seçilmiş primerler ile PCR yapıldı. PCR ürünleri agaroz jel elektroforezinde yürütüldü. Bandların varlığı ve yokluğu dikkate alınarak D=1-S ile genetik uzaklıklar bulundu. SPSS bilgisayar programı kullanılarak genetik uzaklıklarına göre suşlar sınıflandırıldı. Bütün izolatlar plazmid profillerine göre 5 farklı gruba, antibiyotik duyarlılıklarına göre 39 ayrı gruba, RAPD-PCR analizleri sonucuna göre ise 50 ayrı gruba ayrıldı.



**B22** **Stafilokoklarda mecA Gen Varlığının Metisilin Direnci Saptamada Kullanılan Diğer Testlerle Karşılaştırılması**

S.Ercis, B.Sancak, G.Hasçelik

*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

Stafilokoklarda metisilin direncinin doğru olarak belirlenmesi bu bakteri ile oluşan enfeksiyonların tedavisinde oldukça önemlidir. Bu çalışmada metisilin direncini rutin laboratuvarlarda uygulanması kolay olan dört farklı test sonuçları ile metisilin direncinden sorumlu olan mecA geni varlığı arasındaki uyum araştırılmış ve metisilin direncini gösteren, rutin laboratuvarlarda kullanılabilecek en iyi testin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada HÜTF Erişkin Hastanesi Klinik Patoloji Laboratuvarı'nda Kasım 1998 - Mayıs 1999 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve daha önce Mueller Hinton Agar (MHA) disk difüzyon, Mannitol Tuz Agar (MTA) disk difüzyon ve "Sceptor" sistem ile metisilin direncine bakılan ve en az bir testte metisilin dirençli olarak belirlenen 225 stafilokok suşu kullanılmıştır. E-test (oksasilin), üretici firmanın önerileri doğrultusunda %2 NaCl eklenmiş MHA kullanılarak yapılmış ve plaklar 35°C'de *S.aureus* için 24 saat, koagülaz negatif stafilokok (KNS) için 48 saat inkübasyondan sonra değerlendirilmiştir. Çalışmaya alınan 225 suşun 122'si *S.aureus*, 103'ü KNS suşudur. Dört testte de metisiline dirençli olan 152 suşun tümünde (102 *S.aureus*, 50 KNS) mecA geni saptanmıştır. En az bir testte metisilin direnci saptanan 73 suşun 37'sinde mecA geni gösterilmiş (3 *S.aureus*, 34 KNS), 36'sında ise (17 *S.aureus*, 19 KNS) saptanmamıştır. Her test için mecA gen varlığına göre uyum değerlendirildiğinde rutin laboratuvarlarda en fazla kullanılan MHA disk difüzyon testinin *S.aureus* suşlarında özgülüğü (%100) ve duyarlılığı (%99) yüksek, KNS suşlarında ise özgülük (%21.1), ve duyarlılık (%100) düşük bulunmuştur. E test ile yapılan karşılaştırmada ise *S.aureus* (özgülük:%100, duyarlılık: %98.1) ve KNS' larda (özgülük: %100, duyarlılık:%96.4) özgülük ve duyarlılık yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak rutinde önerilen MHA disk difüzyon testinin özellikle KNS suşlarında özgülüğünün düşük olması nedeniyle klinikte metisiline dirençli olgularda E-testinin kullanılabileceğini düşünmekteyiz.



B23

**Stafilokoklarda Metisilin Direncinin PCR ve Oksasilin Agar Tarama Metotları ile Araştırılması**C.Eroğlu<sup>1</sup>, A.Pekbay<sup>2</sup>, E.Duyar<sup>1</sup>, M.Günaydın<sup>2</sup>, Ş.E.sen<sup>1</sup>, M.Sünbül<sup>1</sup>, H.Leblebicioğlu<sup>1</sup>*Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>2</sup>, Samsun*

Metisilin dirençli stafilokok infeksiyonları yıllar içinde giderek artarak günümüzde hastane kaynaklı infeksiyonların en sık nedenleri arasına girmiştir. Metisilin direncinin fenotipik metodlarla saptanması problemlidir. Duyarlılık testleri ile metisilin direnci en güvenilir mikrodilüsyon, Oksasilin agar tarama (OAT) testi ve disk diffüzyon ile saptanabilir. Çalışmamızın amacı metisilin dirençli stafilokokların Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve OAT testi ile tespitidir. Çalışmaya son bir yılda hastanemizde etken olarak izole edilen 157 *Staphylococcus aureus* ve 103 koagülaz negatif stafilokok (KNS) alınmıştır. PCR amplifikasyonu için *MecA* genine uyan iki primer kullanılmıştır. Amplifiye edilen 533 baz çiftlik DNA agaroz jel elektroforezi ile ayrılıp etidyum bromür ile boyandı ve beklenen DNA bandı görülen örnekler pozitif olarak değerlendirildi. OAT testi için %4 NaCl ve 6 µg/ml oksasilin içeren Mueller Hinton besiyeri kullanıldı. Yüksek inokulum ( $10^6$  bakteri/ml) kullanılarak 35°C'de *S. aureus* için 24 saat, KNS'lar için 48 saat inkübasyon uygulandı. PCR ile 56 *S. aureus* ve 67 KNS'da *mecA* geni pozitif olarak bulunurken OAT testi ile 60 *S. aureus* ve 68 KNS suşunda metisilin direnci pozitif olarak bulunmuştur. Tüm stafilokoklarda OAT testinin PCR'na göre duyarlılığı %100, özgüllüğü %96.5, pozitif prediktif değeri % 96.1, negatif prediktif değeri %100 ve temel uyumu % 98.1 olarak bulunmuştur. PCR, *S. aureus*'da metisilin direncinin gösterilmesinde altın standart olarak düşünülse de, rutin laboratuvar uygulamalarında bu teknik zaman alıcı ve pahalı olarak yorumlanmıştır. Duyarlılık ve özgüllüğünün yüksek olması nedeniyle OAT testinin metisilin direncinin saptanmasında PCR'na alternatif olduğu düşünülmüştür.



**B24 Non-Fermentatif ve Enterik Bakterilerde Plazmide Bağlı Antibiyotik Direncinin Araştırılması**

O.B.Özgümüş<sup>1</sup>, Ş.N.Yılmaz<sup>1</sup>, B.Özçelik<sup>3</sup>, F.Aydın<sup>1</sup>, U.Abbasoğlu<sup>3</sup>, D.Arman<sup>2</sup>, M.Dizbay<sup>2</sup>, A.O.Kılıç<sup>1</sup>

*Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Trabzon*

*Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı<sup>2</sup>, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>3</sup>, Ankara*

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi ve Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri Yoğun Bakım Ünitelerinde yatan 103 hasta örneğinden izole edilen; geniş spektrumlu sefalosporin, karbapenem, amikasin, trimetoprim-sulfometoksazol,  $\beta$ -laktamaz inhibitörü ve kinolon dirençli 33 *Pseudomonas* sp. 6 *Acinetobacter* sp., 28 *Escherichia coli* (*E.coli*), 17 *Proteus* sp., 15 *Klebsiella* sp. ve 4 *Enterobacter* sp. suşlarının plazmid içerikleri alkali lizis yöntemi ile araştırıldı. Plazmidler tarafından kodlanan direnç genleri transformasyon ve konjugasyon deneyleri ile test edildi. Transformasyon ile *E.coli* JM109 ve C600 laboratuvar suşlarına klinik bakteri suşlarından izole edilen plazmidlerin değişik antibiyotik direnç genlerini aktardıkları tespit edildi. Bir kısmının da konjugasyon ile *E.coli* laboratuvar suşlarına geniş spektrumlu sefalosporinler başta olmak üzere değişik antibiyotik direnç genlerini aktardıkları saptandı. Çoğunluğu plazmid orijinli antibiyotik dirençliliğinin konjugasyon veya mobilizasyon ile akraba türler veya değişik bakteri türleri arasında yayılma gösterdiği belirlendi.



B25

### Hastane Enfeksiyonu Etkeni Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten *Klebsiella pneumoniae* Kökenlerinin Plazmid Analizi ve Beta-Laktamaz Tiplendirilmesi

C.Çavuşoğlu, S.Göksel, M.A.Dibek, N.Özkalay, C.Saydam, E.Tümbay

*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bornova, İzmir*

Hastane infeksiyonlarını en aza indirmeyi amaçlayan infeksiyon kontrol programlarının önemli görevlerinden biri de epidemiyolojik çalışmalardır. Hastane infeksiyonlarının epidemiyolojisinde moleküler teknikler her geçen gün daha sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmada hastane infeksiyonu etkeni olarak soyutlanan genişlemiş spektrumlu  $\beta$ -laktamaz (GSBL) üreten *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının plazmid profillerinin belirlenmesi ve  $\beta$ -laktamaz enzimlerinin tiplendirilmesi amaçlandı. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda 1997-1998 tarihleri arasında kan kültürlerinden soyutlanan GSBL üreten 21 *K.pneumoniae* izolatı çalışmaya alındı. Genişlemiş spektrumlu  $\beta$ -laktamaz çift disk sinerji yöntemi ile saptandı. Plazmid analizi alkalin lizis yöntemiyle plazmid eldesini takiben %1'lik agaroz jel elektroforez,  $\beta$ -laktamaz tiplendirmesi ise poliakrilamid jelde izoelektrik odaklama yöntemiyle yapıldı. "Size marker" olarak plazmid analizinde  $\lambda$  Hind III DNA ve *Escherichia coli* 50192, izoelektrik odaklamada ise TEM-1, OXA-1 ve SHV-1 enzimleri kullanıldı. Agaroz jel elektroforez sonucunda boyları 3-154 kbp, sayıları 1-3 arasında değişen plazmid profilleri bulunurken, izoelektrik odaklamada (izoelektrik nokta) pI'ları 5.4-7.6 dolaylarında değişen enzim paternleri saptandı. Plazmid paternlerinin değerlendirilmesi sonucunda Anestezi Yoğun Bakım'dan izole edilen kökenlerin plazmid profillerinin yeni bir salgın sonrasında değiştiği, Çocuk Sağlığı'ndan izole edilen kökenlerin tümünün plazmid paternlerinin aynı (fakat hastanenin diğer servislerinde görülmeyen) olduğu saptandı. Enzimlerin pI'ları göz önüne alındığında, SHV-1, TEM-1 ve OXA-1 sınıfı  $\beta$ -laktamazlar ile uyumlu bant paternleri gösterdikleri saptandı. On beş kökende SHV-1 enzimi ile uyumlu bant paterni saptanırken, Çocuk Sağlığı'ndan izole edilen üç kökende TEM-1 ile uyumlu bant paterni saptandı. Sonuç olarak GSBL üreten *K.pneumoniae* kökenlerinin neden olduğu salgınlarda plazmid analizi moleküler epidemiyoloji amacıyla kullanılabilir bir yöntemdir.



## Çiğ Sütlerden İzole Edilen *Bacillus* Türlerinin Proteinaz ve Beta- Laktamaz Enzim Aktivitelerinin Araştırılması

G. Uraz<sup>1</sup>, M. Kaanoğlu<sup>2</sup>

Gazi Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü,  
Mikrobiyoloji, Ankara<sup>1</sup>

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara<sup>2</sup>

Araştırmamızda, 195 çiğ süt örneğinden 33 *Bacillus* izole edilerek adlandırılmıştır. Araştırmamızda, çiğ süt örneklerinden izole edilen *Bacillus* türleri içinde en yaygın olarak görülen türler, 3 *B.brevis* (%9), 3 *B.cereus* (%9), 3 *B.licheniformis* (%9), 3 *B.mycoides* (%9), 3 *B.sphaericus* (%9), 3 *B.stearothermophilus* (%9), ve 3 *B.subtilis* (%9) türleri olup, *B.megaterium* (%3) türünün izolasyonu ise düşük oranlarda gerçekleştirilmiştir. İzole edilen *Bacillus*'ların proteinaz enzim aktiviteleri Skim-Milk Agar ve YCB-BSA (Yeast Carbon Base-Bovine Serum Albumin) Agar besiyerleri kullanılarak değerlendirilmiştir. 33 *Bacillus*'un sadece 6'sında proteolitik aktivite pozitif olarak bulunmuştur. Geriye kalan 27 *Bacillus*'da ise hiçbir proteolitik aktivite gözlenmemiştir. Proteolitik aktivitesi pozitif olarak bulunan 6 *Bacillus* izolatı 5 *Bacillus* türü olarak tespit edilmiştir. Bunlar sırasıyla; *B.lentus* (*B.lentus-I*, *B.lentus-II*), *B.subtilis*, *B.cereus*, *B.sphaericus* ve *B.megaterium* türleridir. İzolatların büyük bir çoğunluğu her iki besiyerinde de kuvvetli proteolitik aktivite göstermiştir. Ancak Skim-Milk Agarda, YCB-BSA Agara oranla proteolitik aktivite zonları daha iyi gözlenmiştir. Çalışmamızda adlandırılmaları yapılan *Bacillus*'ların proteolitik enzim aktiviteleri yanında beta-laktamaz enzim aktiviteleri de çalışılmıştır. Bu amaçla çalışmamızda, Iodometrik Test ve Kromojenik Sefalosporin (Nitrosefin) Test yöntemleri kullanılarak beta-laktamaz enzim aktiviteleri de değerlendirilmiştir. 33 *Bacillus*'un 10'unda beta-laktamaz enzim aktivitesi pozitif olarak tespit edilmiştir. Beta-laktamaz pozitif olan 10 *Bacillus* türünün 2'si *B.lentus*, 1'i *B.megaterium*, 2'si *B.brevis*, 2'si *B.mycoides*, ve 3'ü *B.polymxa*'dır. Geriye kalan 23 *Bacillus* izolatının beta-laktamaz enzim varlığı negatif olarak değerlendirilmiştir. Araştırmamızda ayrıca, beta-laktamaz enzim aktivitesi ve proteinaz enzim aktivitesi pozitif olarak değerlendirilen üç *Bacillus* türümüz tespit edilmiştir. *Bacillus lentus-I*, *Bacillus lentus-II*, ve *Bacillus megaterium* türlerinin hem proteinaz ve hem de beta-laktamaz enzim aktiviteleri pozitif olarak değerlendirilmiştir.



B27

**Proteinaz ve Beta-Laktamaz Aktiviteleri Test Edilmiş Bazı *Bacillus* Türlerinden Plazmid DNA İzolasyonu**

G.Uraz, S.Arslan, H.Mavuş

*Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji, Ankara*

Araştırmamızda çeşitli 195 örnekten 33 *Bacillus* izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu 33 *Bacillus* türü proteinaz ve beta-laktamaz enzim aktivitelerinin değerlendirilmesi için çeşitli yöntemlerle test edilmişlerdir. Beta-laktamaz pozitif olan 5 (*B.lentus*, *B.megaterium*, *B.brevis*, *B.mycoides*, *B.polymxa*), proteinaz pozitif olan 5 (*B.lentus*, *B.subtilis*, *B.cereus*, *B.sphaericus*, *B.megaterium*) ve beta-laktamaz negatif olan 2 (*B.subtilis* ve *B.licheniformis*) tür olmak üzere bazı *Bacillus* türlerinin hem beta-laktamaz pozitif hem negatif, hem de proteinaz pozitif olduğu düşünülerek toplam 9 *Bacillus* türünün plazmid DNA izolasyonu yapılmıştır. Çalışılan örnekler  $\lambda$  Hind III Marker eşliğinde jel-elektroforezde yürütüldüğünde *B.subtilis*, *B.mycoides*, *B.megaterium* ve *B.polymxa*'da plazmid DNA gözlenememiştir. Farklı büyüklüklerde olmak üzere *B.cereus*'da 1, *B.brevis*'de 1, *B.licheniformis*'de 2, *B.sphaericus*'da da 2 plazmid DNA gözlenmiştir.



B28

***Eschericia coli, Klebsiella ve Salmonella Cinsi Bakterilerde Katı Fazda, Değişik Isılarda Konjugatif Direnç Aktarımı***S. Gergin Gündeş<sup>1</sup>, A.Karadenizli<sup>2</sup>, F.Kolaylı<sup>2</sup>, H.Vahaboğlu<sup>1</sup>, A.Willke<sup>1</sup>*Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Bakteriyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>2</sup>, İzmit*

Konjugasyon, iki bakteri membranının birleşerek, por aracılığı ile DNA aktarımını sağlamasıdır. Bakteri tarafından sentezlenen konjugatif plazmidler, bu birleşmeyi sağlayan pililerin yapımından sorumludur. Konjugatif plazmid sentezinin katı, sıvı ya da membran fazda farklı gerçekleştiği bilinmektedir. *Enterobacteriaceae* ailesine ait bazı cinslerde plazmid konjugasyonu ısıya da duyarlıdır. Bu çalışmada, aileye ait çoğul dirençli *Escherichia coli*, *Klebsiella* ve *Salmonella* cinslerinin iki farklı konsantrasyon ve üç farklı ısıda, direnç plazmidlerini alıcı *E. Coli* J53-1 (met pro Rif) aktarmaları incelenmiştir. Bu amaçla her gruptan beş bakteri seçilmiş, her bir bakteride iki farklı konsantrasyonda alıcı ile karşılaştırılmıştır. A grubunda verici: alıcı oranı 5:1; B grubunda ise 1:5 dir. Tüm konjugasyonlar plak yüzeyinde 30°C, 37°C, 42°C'de karşılaştırılmıştır. "Repeated measures one way ANOVA test" ile yapılan multivaryans analizde her üç grupta kendi içinde değişik ısı ve konsantrasyon kıyaslamasında anlamlı farklılıklar göstermiştir. 2K testi ile univaryans kıyaslamalar da yapılmış, tüm bakterilerde alınan değerlerin ortalama değerlerle karşılaştırılması sonucunda B grubuna ait 37°C de gerçekleştirilen konjugasyonların daha başarılı olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, plak konjugasyon deneyinin her incelemeye alınacak bakteri cinsi için optimize edilmesi gerektiği, derece olarak 37°C'nin tercih edilmesi ve alıcının vericiye göre 1:5 oranında fazla kullanılmasının daha iyi sonuç verdiği görülmüştür.



**B29 Bakteriyel Translokasyon ve Dokulardaki Bakteri Miktarının "LightCycler" ile Saptanması**İ.Dinçer<sup>1</sup>, T.Kocagöz<sup>1</sup>, A.Baykal<sup>2</sup>, M.Gündoğan<sup>2</sup>*Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Genel Cerrahi Anabilim Dalı<sup>2</sup>, Ankara*

Karın içi cerrahi girişimler ve tıkanma gibi barsak içi basıncı arttıran durumlar, barsak içindeki bakterilerin translokasyonuna neden olabilir ve bakteriler çeşitli organlara dağılırlar. Translokasyon ve çeşitli organlarda bakteri varlığının kültür ile gösterilmesi, çoğunun üretilmesindeki güçlükler nedeni ile oldukça zordur. Bu sorunu aşmaya yönelik tüm bakterilerde bulunan ortak genlerin çoğaltılarak bakteri varlığının saptanmasına yönelik nükleik asit çoğaltma yöntemleri geliştirilmiştir. Ancak bu yöntemlerde DNA miktarı, çoğaltmanın bir platoya eriştiği işlem sonunda saptandığı için, başlangıçtaki DNA miktarı hakkında bir bilgi vermemekte, sadece bakteri varlığı belirlenirken miktarı saptanamamaktadır. Biz bu çalışmada çeşitli cerrahi girişimler sonrasında, farelerden alınan doku örneklerinde "LightCycler" kullanarak DNA çoğaltılması sırasında fluorometrik ile, Gram negatif bakteri miktarının saptanmasını sağlayan bir yöntem geliştirdik. Doku örneklerinden DNA saflaştırıldıktan sonra, daha önce kültür ile içerdiği bakteri miktarı belirlenmiş süspansiyon seyreltimlerinden elde edilen DNA örnekleri standart olarak kullanılarak, "LightCycler" ile DNA çoğaltılması yapıldı. Çoğaltma için evrensel gram negatif bakteri primerleri kullanıldı. Fluorometrik ölçüm ile DNA çoğaltmasının sürekli izlenebilmesi ve standartlar ile örneklerin hangi döngülerde eksponansiyel artış gösterdiğinin karşılaştırılması sayesinde, örneklerdeki bakteri miktarının hesaplanabildiği gözlemlendi. Fluorometrik olarak DNA artışının izlenebilmesi bakteri translokasyonunun ne düzeyde olduğu ve farklı organlarda ne miktarda bakteri bulunduğunun saptanmasında çabuk ve uygulaması kolay bir yöntem olarak karın içi patolojik olayların etkilerinin izlenmesinde kullanılabilir.



B30

## Rekombinant *Salmonella typhimurium aroB* Geninin *Eschericia coli* BL21(DE3) Suşunda Overekspresyonu

A.Günel-Özcan<sup>1</sup>, D.J. Maskell<sup>2</sup>, K.A. Brown<sup>3</sup>

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,  
Manisa<sup>1</sup>

Cambridge University Veterinary Medicine Microbiology Department  
UK<sup>2</sup>

Imperial College Science, Technology, Medicine Biochemistry  
Department UK.<sup>3</sup>

Günümüzde patojenlere karşı antibiotik direncinin artması yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Bir önceki çalışmamızda rekombinant DNA teknolojisini kullanarak memelilerde bulunmayan prekurizmat metabolit yolunun ikinci basamak enzimi olan dihidrokuinat sentazın (DHQS) yeni bir antibiyotik hedefi olabileceğini göstermiştik. Bu çalışmamızda ise protein yapı çalışmaları için gerekli DHQS'in rekombinant DNA teknolojisi ile elde etmeyi amaçladık. Öncelikle *S. typhimurium* DHQS'i kodlayan *aroB* geni polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile amplifiye edilmesini takiben *pET21-d* ekspresyon vektörünün özgün *NcoI* ve *HindIII* restriksiyon bölgesine aktarıldı. Daha sonra rekombinant *pET21d-aroB* DNA'sı *E. coli* BL21 (DE3) suşuna transforme edildi. Elde edilen klonların seleksiyonunu takiben tek koloniden elde edilen bakteri kültürü OD<sub>600</sub> 0.8'e ulaştığında, 0.2mg/ml konsantrasyonunda izopropiltiyogalaktosit (IPTG) ile indüksiyonu sonucu rekombinant *S. typhimurium aroB* geninin overekspresyonu sağlandı. Hücre lizatlarının sonikasyonu ile elde edilen çözünebilen DHQS protein elektroforez yöntemi ile moleküler ağırlığının 39 kDa olduğu saptandı.



**B31 Fluorometrik DNA Amplifikasyonu (LightCycler) ile Mantarların Saptanması ve Tür Ayrımı**

T. Kocagöz, B. Sancak

*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda, özellikle fungemiye yol açan mantar enfeksiyonlarında erken tanı ve tedavi yaşamsal önem taşımaktadır. Klasik kültür yöntemleri ile mantar saptanması ve türünün belirlenmesi 2 ila 7 gün sürebilmektedir. Biz bu çalışmada "LightCycler" kullanarak örneklerde, DNA saflaştırılması dahil, 3-4 saatte mantarları saptayan ve türlerini belirleyen bir yöntem geliştirdik. Tüm mantar türlerinde homolog olan 18S rRNA gen bölgeleri kullanılarak aynı primer çifti ile farklı türlerden DNA çoğaltması "LightCycler" 'da gerçekleştirildi. Çoğaltma sonunda ürünlerin erime dereceleri incelendiğinde araştırılan türlerin birbirinden ayırt edilebildiği gözlemlendi. Tedavinin yönlendirilmesinde özellikle *Candida albicans*'ın diğer türlerden ayırt edilmesi önemli olduğundan bu yöntem kolay, hızlı, ve çok yararlı bir yöntem olarak günlük kullanıma kısa zamanda girebilir.



## Bakteriyel DNA Metiltransferaz *M.Aql* ın $\alpha$ ve $\beta$ Altbirimlerinin Klonlanması ve Polipeptidlerin Saflaştırılması.

H. Pınarbaşı<sup>1</sup>, E. Pınarbaşı<sup>2</sup>, D. Hornby<sup>3</sup>

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı<sup>1</sup>,  
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı<sup>2</sup>, Sivas

Sheffield University, Department of Molecular Biology and  
Biotechnology<sup>3</sup>, Sheffield

DNA modifikasyonunun en yaygın formu metilasyondur. Metillenmiş bazlar replikasyondan sonra DNA metiltransferazlar olarak bilinen enzimler tarafından oluşturulur. Bilinen bütün DNA metiltransferazlar S-Adenozil-L-Metionin' i metil grubu vericisi olarak kullanırlar. Bakterilerde DNA metilasyonu Restriksiyon-Modifikasyon (RM) sisteminin bir parçasıdır ve görevi prokaryotik immün sistem gibi çalışmaktadır. Bakterilerde spesifik dizilerin metilasyonu DNA'yı homolog restriksiyon endonükleazın etkisine karşı korur. Sitozin 5 DNA (C5) DNA metiltransferazlar hem ökaryotlarda hem de prokaryotlarda bulunur. Şimdilerde elli C5 metiltransferazın DNA dizileri bilinmektedir. *M.Aql* 1990 yılında Karreman ve De Waard tarafından *Agmenellum quadriplucatum*'dan izole edilmiştir. Diğer bütün sitozin 5 metiltransferazlar monomerik enzimler olmasına karşı *M.Aql*  $\alpha$  ve  $\beta$  olmak üzere iki altbirimli bir enzimdir. ORF $\alpha$ , N terminal 248 amino asidi kodlarken, ORF $\beta$ , C terminal 139 amino asidi kodlar. Bu çalışmada *M.Aql* ın  $\alpha$  ve  $\beta$  altbirimlerini kodlayan genler bir ekspresyon vektörü olan pET 14b'ye ayrı ayrı klonlanmış ve plasmid pET $\alpha$  ve pET $\beta$  oluşturulmuştur.  $\alpha$  ve  $\beta$  genleri overeksprese edilmiş,  $\alpha$  ve  $\beta$  polipeptidleri metal iyon afinite kromatografisi yoluyla tek bir basamakta saflaştırılmıştır. DNA metiltransferaz aktivitesi işaretli S-Adenozil-L-Metionin den <sup>3</sup>H lerin DNA dana timus DNA'sına aktarılması yöntemi ile belirlenmiştir. *In vitro* metiltransferaz aktivite çalışmaları, ancak her iki altbirimde reaksiyon karışımında bulunduğu aktif bir metiltransferaz oluştuğunu ve S-Adenozil-L-Metionin'den metil gruplarının DNA'ya transferi reaksiyonunu katalizlediğini göstermiştir.



B33

**PCR Ürünlerinin Doğru Çerçeveye Oturmasını Garantileyen Klonlama Vektör Sistemi**

Ö. Köseoğlu, T. Kocagöz

*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

Günümüzde klonlama amacı ile DNA yaygın olarak Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (PCR) ile çoğaltılarak elde edilmektedir. Çoğaltma için *Taq* polimeraz kullanıldığında, enzim zincir sentezi sonunda DNA'dan düşerken, kalıptan bağımsız olarak 3' ucuna bir deoksiadenozin (A) eklemektedir. T-klonlama vektörlerinde klonlama bölgesinde zincirlerin ucunda Timidin (T) çıkıntıları bulunduğu için, bunlara PCR ürünleri A-T ilişkisi ile kolayca bağlanır. Biz bu çalışmada ekspresyon bölgesinde birbirinden sadece bir ve iki nükleotid farklı Xa 1, 2, ve 3 plazmid vektörlerini kullanarak, doğru ekspresyon çerçevesine oturtmayı garanti eden bir T-klonlama vektör sistemi hazırladık. Xa2 plazmidi ekspresyon bölgesinde Xa1'den bir nükleotit, Xa3 ise iki nükleotit fazla içermektedir. Çalışmada Xa plazmidlerinin hepsi künt uçlu kesen *EcoRV* restriksiyon enzimi ile kesildi. *Taq* polimeraz ve T ile 72°C'de 45 dakika inkübe edilerek 3' uçlara T eklendi ve vektörler saflaştırıldı. Bu vektörlere PCR ürünleri eklenip Ligaz ve ATP ile inkübe edildiğinde, DNA'ların vektöre etkin bir şekilde bağlandığı, plazmid izolasyonu ve incelemesi ile saptandı.



**Yoğun bakım ünitesinden izole edilen gram negatif bakterilerde oxa 10 grubu extended spectrum beta-laktamaz (ESBL) varlığı.**  
S.Kocagöz<sup>1</sup>, B.Altun<sup>1</sup>, P.Zarakolu<sup>1</sup>, D.Özcan İnan<sup>2</sup>, M.Akova<sup>1</sup>

*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Bölümü<sup>1</sup>, Ankara*  
*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi<sup>2</sup>, Antalya*

Ülkemizde dünyada olduğu gibi "Extended spectrum beta-laktamaz enzimleri" (ESBL) *Enterobacteriaceae* grubu bakterilerde sık karşılaşılmaya başlamıştır. Hastanemizde de enfeksiyon etkenleri içinde bu grup etken önem taşımaktadır. İlk kez grubumuzca 1991 yılında hastanemizde izole edilen bir *P. aeruginosa* suşunda tanımlanmış OXA-11 beta-laktamazını takiben hastanemiz izolatlarında bu enzimin 4 değişik varyantı (OXA-14,15,16,17) daha saptanmıştır. Bu tip enzimleri taşıyan bakterilerin hastane mikroflorasında bulunması ve yatan hastalarda kolonizasyona yol açması ve ardından enfeksiyon gelişme riskinin artması söz konusudur. Bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi İç Hastalıkları Yoğun Bakım Ünitesi, Yanık ve Plastik Cerrahi servislerine yatan hastalarda yatışı takiben ilk 72 saat, 5-10 günler arası ve 15-21. günler arası alınan sürveyans kültürlerinde yüksek seftazidim direnci (32 mcg/ml) gösteren *P.aeruginosa* ve seftazidim MİK değeri >1 mcg/ml olan diğer Gram-negatif bakterilerin izole edilmesi, ve bu suşlarda ESBL'in varlığının araştırılması amaçlanarak 10 Ağustos 1997 ve 6 Aralık 1999 tarihleri arasında 198 hastadan 307 örnek toplanmıştır. Bunların 109'unda (%35.5) bir ya da daha fazla Gram-negatif bakteri üremiştir. İzole edilen gram negatif izolatların 4'ünde (*P.aeruginosa* n:2 ve *K.pneumoniae* n:2), OXA-10 geni varlığı dot-blot hibridizasyon ve PCR yöntemleriyle gösterilmiştir. PCR ile amplifiye edilen 720 bp'lik gen ürünleri *PVU II* ve *HaeIII* restriksiyon enzimleri ile kesildiğinde *PVU II* ile 408/312 bp'lik iki kesim ürünü tespit edilerek bu ürünlerin OXA-10 ailesinden oldukları doğrulanmıştır. Ayrıca *Hae III* ile yapılan ikinci restriksiyon enzim kesimlerinde 284/240/196 bp'lik kesim ürünü vererek OXA-10/ 17 oldukları saptanmıştır. Bu suşların epidemiyolojisinin saptanması alınacak önlemlere yön vererek hastane enfeksiyonlarının kontrolünü, hastalardaki morbidite ve mortalitenin azaltılmasını, kullanılacak antibiyotik rejimlerinin belirlenmesini sağlayacaktır.



B35

**Penisiline Orta Düzey Dirençli Pnömonok Suşlarının Serotiplendirilmesi ve "Pulsed-Field Gel Electrophoresis" ile Klonal Yakınlıklarının Araştırılması**D. Eşel<sup>1</sup>, S. Kocagöz<sup>2</sup>, S. Ünal<sup>2</sup>, B. Sümerkan<sup>1</sup>*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Kayseri.**Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Enfeksiyon Hastalıkları Bölümü<sup>2</sup>, Ankara.*

Pnömonok suşlarında penisilin direnci giderek önemi artan bir sorundur. Penisiline dirençli pnömonokların klonal yayılım gösterdikleri bilinmektedir. Bu çalışmada Kayseri yöresinde izole edilen penisiline orta düzey dirençli pnömonok suşlarının serogrup/serotip dağılımının ve klonal yayılımlarının araştırılması planlandı. Aralık 1997-Ekim 1999 tarihleri arasında 20 (%51,3)'si çocuk, 19 (48,7)'u erişkin hastalara ait klinik örneklerden izole edilen penisiline orta düzey dirençli 39 pnömonok suşu çalışmaya alındı. Quellung reaksiyonu yöntemiyle yapılan serotiplendirme ile suşların en çok serogrup/serotip 19 (%56), 23 (%18) ve 14 (%8)'e ait olduğu gözlemlendi. PFGE ile bu suşlar içinde 10 farklı klon varlığı saptandı. Bu çalışmada dirençli pnömonok suşları arasında klonal yakınlık gözlenirken, serogruplar ile PFGE paternleri arasında bir ilişki bulunamadı.



## ***Candida albicans*'ın Fare Modelinde Kan ve Çeşitli Organlarda PCR (Polymerase Chain Reaction) ile Gösterilmesi**

H.Mansuroğlu, S.Kuştimur

*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

*Candida albicans* kanser tedavisi, solid organ veya kemik iliği transplantasyonu nedeniyle immünsüpresif kemoterapi alan ve çeşitli cerrahi müdahalelere maruz kalan hastalarda mortalitesi yüksek olan sistemik enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Sistemik kandidiyazisin tanısı genel olarak kültüre ve doku biyopsi örneklerine dayanmaktadır. Ancak bu hastalarda erken tanı çok önemli olduğu halde kültürün sonuçlanması en az 2 gün sürmektedir. Bu nedenle bu çalışmada çok daha kısa zamanda sonuç verebilen PCR yönteminin sistemik kandidiyazis tanısında kullanılabilirliği ve duyarlılığı fare modelinde kültür ile karşılaştırılarak araştırılmıştır. PCR yönteminde EO3 geninin *C.albicans*'a spesifik olan 125 baz çiftini hedef alan bir çift primer kullanılmıştır. PCR'ın alt saptama limiti 100 mikrolitre insan kanında 200 *C.albicans* hücresi olarak belirlenmiştir. Farelere  $10^6$  *C.albicans* hücresi verildikten 30 dakika sonra alınan kan, karaciğer, akciğer, böbrek ve dalak örneklerinde *C.albicans* DNA'sı gösterilebilmiştir. Karaciğer, akciğer ve böbrek örnekleri için elde edilen sonuçlarda kültür ve PCR arasında %100 uyum saptanmıştır. Ancak çalışmaya alınan 10 kan ve 10 dalak örneğinin hepsinde kültür ile üreme saptandığı halde PCR ile 8 kan ve 7 dalak örneği pozitif olarak tesbit edilmiştir. PCR'ın kültüre göre çok daha hızlı sonuç vermesi ve özgül olması nedeniyle *C.albicans* enfeksiyonu tanısında, kültür ile birlikte kullanılacak bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır.



B37

### Disk Difüzyon Yöntemi ile Antibiyotiklere Duyarlılığın 4-6 saatte Belirlenmesini Sağlayan Dio-Sensimedia Besiyeri

S.Ercis, Ö.Darka, G.Hasçelik, T.Kocagöz

*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

Bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıklarını belirlemek amacı ile Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemle duyarlılığın belirlenebilmesi için bir gecelik inkübasyon gerekmektedir. Dio-Sensimedia, agar yüzeyinde üremekte olan bakterilerin metabolik aktivitelerini, renk değiştirmek yolu ile kısa sürede göstermektedir. Enterik bakteriler ve stafilokoklar için kullanılan kırmızı Dio-Sensimedia üzerinde, sarıya dönmüş üreme bölgeleri arasında kırmızı daireler şeklinde üreme inhibisyon bölgeleri ortaya çıkar. *Pseudomonas*, *Acinetobacter* gibi fermentatif olmayan bakteriler için kullanılan sarı renkli Dio-Sensimedia üzerinde ise kırmızı üreme bölgeleri arasında sarı inhibisyon bölgeleri oluşmaktadır. Bu çalışmada, Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Patoloji laboratuvarında hasta örneklerinden izole edilen patojen bakterilerin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları Mueller Hinton ve Dio-Sensimedia besiyerleri kullanılarak değerlendirildi ve sonuçlar karşılaştırıldı. Tüm enterik bakteriler, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türlerinde 4-5 saatte, *Staphylococcus aureus*'ta 5-6 saatte Dio-Sensimedia üzerinde renkli inhibisyon bölgelerinin belirdiği ve sonuçların değerlendirilebildiği gözlemlendi. Böylece antibakteriyellere duyarlılık sonucu, kültürde bakterinin tanımlandığı aynı iş günü içerisinde belirlenmiş oldu. Sonuçlar aynı gün değerlendirilemeyecek olursa, ertesi güne renkli inhibisyon zonlarının kaybolduğu buna karşın aynı Mueller Hinton besiyerinde olduğu gibi bakteri tabakasının içerisinde inhibisyon bölgelerinin oluştuğu saptandı. Her iki besiyerinde saptanan duyarlılık sonuçları karşılaştırıldığında, antibiyotikten antibiyotiğe değişiklik göstermekle birlikte, genel uyumluluğun %95 ve üzerinde olduğu belirlendi.



**B38 Plasmodium vivax Sıtmalı Hastaların İnterlökin Düzeylerinin Parazitemi ile İlişkisi**

G.Aslan, M.Ulukanlıgil, A.Seyrek, H.Özbilge, M.Bakır, S.Taşçı

*Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa*

İnterferon tip I (IFN), Tümör nekrotizan faktör (TNF), İnterlökin-1 (IL-1), İnterlökin-6 (IL-6) doğal bağışıklığa aracılık eden mediatörlerdir. *P.vivax* sıtmalı hastalarda, enfeksiyona karşı konak savunmasında önemli rol oynayan monosit kökenli  $TNF\alpha$ , IL-1, IL-6, lenfosit kökenli IFN- $\gamma$  serum düzeylerini tedavi öncesi ve tedavi sonrası karşılaştırarak parazitemi ile ilişkisini belirlemeyi amaçladık. Kalın damla preparatlarında Giemsa boyama yöntemi ile *P.vivax* pozitif ve klasik sıtma belirtileri görülerek sıtma tanısı konulan 30 hastadan tedavi öncesi ve tedaviden yaklaşık 3 hafta sonra alınan serum örneklerinde  $TNF\alpha$ , IL-1, IL-6, IFN- $\gamma$  (CYTIMMUNE) ELISA yöntemiyle firmanın önerdiği yöntemine uygun olarak çalışılmıştır. Kalın damlada parazit sayısı 500 parazit/ $\mu$ l ve üzerinde olan olgularda özellikle  $TNF\alpha$  ve IL-6 düzeylerinde tedavi sonrası düzeylere göre belirgin bir artış kaydedilmiştir. Tedavinin izlenmesinde ve yetersiz ilaç almış olguların değerlendirilmesinde  $TNF\alpha$  ve IL-6 düzeylerinin belirlenmesinin faydalı olacağı inancındayız.



B39

***Plasmodium vivax* Tanısında Hızlı "Dipstik Test" ile Standart Kalın Damla Yönteminin Karşılaştırılması**

G.Aslan, M.Ulukanlıgil, A.Seyrek, A.Uzala

*Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa*

Bu çalışmada vivax sıtmasını saptamada kullanılan konvansiyonel standart kalın damla tekniği ile parazitin laktat dehidrogenaz enzimine karşı özgül antikor geliştirilerek, kolorimetrik olarak saptama sağlayan yeni tekniğin tanısal performansları karşılaştırıldı. "Rapid test" için Optimal (Flow Inc., Portland, Oreg) ticari kiti kullanıldı. Sıtma Savaş Merkezi'ne başvuran 167 olgunun her iki test sonuçları klinik bulgularla birlikte karşılaştırıldı. 72 hasta kalın damla mikroskopisinde parazit saptanıp, klinik olarak vivax sıtma tanısı olduğu halde bu hastaların 3'ünde "Optimal test" sonuçları negatif bulundu. Ancak yeni testin yalancı pozitifliği saptanmadı. "Optimal rapid malaria diagnostic test" yüksek özgüllüğe sahip olmakla birlikte duyarlılığının klasik kalın damla yöntemi kadar yüksek olmadığı saptanmıştır.



## DİZİN

## A

ABASIYANIK MF	B07, B12
ABBASOĞLU U	B24
AÇAR A	B12
AÇIK L	B21
AKAN P	A21
AKARCA US	A16
AKGÜN Y	A04
AKOVA M	B34
AKYÖN Y	B11, B14
ALAEDDİNOĞLU İ	A22
ALBAY A	A30
ALP A	A30
ALP MN	A02
ALTAŞ K	A17
ALTINDIŞ M	A25
ALTIOK E	A21
ALTUN B	B34
APAYDIN N	A11
ARAT Z	A37
ARIKAN S	B03
ARİTA M	A22
ARMAN D	B24
ARSLAN S	B08, B27
ARSLAN H	A37
ASLAN G	B04, B38, B39
AVCI İY	A35
AYDIN F	B01, B24
AYDOĞAN H	A30

## B

BAHÇECİOĞLU İH	B13
BAKIR M	B38
BAŞUSTAOĞLU AC	A07, A35
BAYINDIR Y	B18
BAYKAL A	B29
BEKER CM	A36
BİLGİÇ A	A10, A13, A16, A31, A32
BİNNET H	B09
BOLAT Y	A34
BOZDAYI G	A09, A12
BROWN KA	B30
BUDAK T	A02



BULUT H	A23, A34
BULUT Y	A01, A23, B13
BÜYÜKBERBER N	A03

**C**

CAVE MD	A29
CERYAN N	A11
ÇAVUŞOĞLU C	A31, A32, B25
ÇELEBİ A	B21
ÇIRAK MY	A08, A09
ÇÜRÜK A	B06

**D**

DAĞLI M	A18
DARKA Ö	B37
DİBEK MA	B25
DİLEK K	A15
DİNÇER İ	A28, B29
DİZBAY M	B24
DOĞAN BG	A33
DOYMAZ MZ	A01, A23, A34, B13
DURMAZ R	A03, A29
DUYAR E	B23

**E**

EGESEL T	B11
ENGİN D	B03, B10, B11
ERCİS S	B22, B37
ERDEM F	B02
ERENSOY S	A10, A13, A16
ERGİN F	A37
ERGİN S	A17
ERGÜVEN S	B04
EROĞLU C	B23
EROL M	A11
ERSOY Y	B18
ERSÖZ M	A21
ERTAN P	B05
ERTÜRK M	B01
ESEN Ş	B23
ESİN N	A35
EŞEL D	B35

**F**

FİDAN İ	A08, A19
---------	----------

**G**

GÖKALP N	A18, A20
GÖKSEL S	A10, A13, B25
GÜLER L	B16
GÜNAL S	A29
GÜNALP A	A33, B04, B11, B14, B20
GÜNAYDIN M	B23
GÜNDEŞ SG	B28
GÜNDOĞAN M	B29
GÜNDÜZ K	B16
GÜNDÜZ Z	B02
GÜNEY Ç	A05, A07, A35
GÜR D	B20
GÜRBÜZ OA	A11
GÜRSOY Ç	A06

**H**

HARBOUR DA	A26
HASÇELİK G	A33, B22, B37
HAZNEDAROĞLU T	A05, A30
HELPS CR	A26
HEPER Y	A15
HORNBY D	B32

**i**

İNAL A	A14, A36
İNAN DÖ	B34

**K**

KAANOĞLU M	B26
KALKAN A	A23, B13
KALKANLI S	A02
KANAN B	A04
KARADENİZLİ A	B28
KARAGÖZ S	A06
KAYA S	B11
KILIÇ AO	A34, B01, B15, B24
KİLİR H	A06
KİZİRGİL A	B13
KOCAGÖZ S	B02, B34, B35
KOCAGÖZ T	A18, A27, A28, B03, B04, B10, B20, B29, B31, B33, B37
KOÇ AN	B02
KOLAYLI F	B28



KORU Ö	B21
KÖSEOĞLU Ö	B20, B33
KÖYBAŞI S	B11
KUBAR A	A07
KUŞTİMUR S	A08, A09, A18, B36
KÜÇÜKKARAARSLAN A	B21

**L**

LEBLEBİCİOĞLU H	B23
-----------------	-----

**M**

MANSUROĞLU H	A08, B36
MARAŞ Y	B08
MASKELL DJ	B30
MAVUŞ H	B27
McGREGOR K	B18
MERT A	A11
MISTIK R	A15
MİDİLLİ K	A17

**O - Ö**

OK Ü	B16
ONAĞ A	B05
ORKUNOĞLU FE	A14, A36
OTLU B	A03
ÖZACAR T	A13, A16
ÖZBEK A	B19
ÖZBİLGE H	B38
ÖZBİLGİN A	B05
ÖZCAN AG	B30
ÖZCAN K	B06
ÖZÇELİK B	B24
ÖZDARENDELİ A	A34
ÖZDEMİR N	A37
ÖZEROL İH	A29
ÖZGÜMÜŞ OB	B24
ÖZGÜNEN FT	B06
ÖZKAHYA M	A13
ÖZKALAY N	A10, B25
ÖZKAYA E	A22
ÖZKUL A	A25
ÖZSOY	A20
ÖZTÜRK A	B16
ÖZTÜRK N	A15
ÖZYAVUZ Ş	B03

**P-R**

PEKBAY A	B23
PINAR A	A33, B14
PINARBAŞI E	B32
PINARBAŞI H	B32
ROTA PA	A24
ROTA S	A08, A09, A12

**S-Ş**

SAÇKESEN C	B14
SALİH B	B07, B12
SANCAK B	B03, B22, B31
SANDER E	B12
SARAÇLAR Y	B14
SARIBAŞ Z	A27
SARIOĞLU T	A21
SAYDAM CÇ	A31, A32, B25
SAYINER AA	A16
SERTÖZ RY	A10, A16
SEYREK A	B04, B38, B39
SÖNMEZ E	B18
SÜMERKAN B	B35
SÜN BÜL M	B23
ŞAHİN F	B19
ŞAHİN K	A03
ŞAHİN M	A30
ŞEKER S	B07
ŞENER B	B20
ŞENGÜL A	A14, A36
ŞİMŞEK S	A02

**T**

TAMAY AT	B05
TANRIVERDİ S	B06
TARAKÇI Ö	A37
TARHAN G	A18
TAŞÇI S	B38
TAŞYÜREK T	A24
TEKEREKOĞLU M	A03
TEKEŞ S	A02
TEZCAN S	A33
TORUN ÖY	B15
TOSUN İ	B01
TÖRE O	A15



TUNCEL M	A31, A32
TÜMBAY E	B25
TÜRET S	A29
TÜRKOĞLU S	A13

**U-Ü**

ULUKANLIGİL M	B04, B38, B39
URAZ G	B08, B09, B26, B27
US T	A04
USLU H	B19
UYANIK U	A14
UZALA A	B39
ÜLGEN B	A17
ÜLKAR GB	A11
ÜNAL S	B35

**V-W**

VAHABOĞLU H	B28
VERDİ H	A12
WILLKE A	B28

**Y**

YANG Z	A29
YAPAR M	A05, A07, A35
YERELİ K	B05
YETKİN Gİ	A11
YILDIRAN ŞT	A05, A30
YILMAZ H	A26
YILMAZ N	A18, A20, A24
YILMAZ ŞN	B24
YOUNG HJ	B18
YURTKURAN M	A15

**Z**

ZARAKOLU P	B34
ZEYTİNOĞLU A	A13



# LightCycler™ System

- **Real-time, On-line PCR<sup>1</sup>**
- **Kalitatif PCR<sup>2</sup>**
- **Kantitatif PCR<sup>3</sup>**
- **Mutasyon Analizi<sup>4</sup>**
- **Multipleks PCR<sup>5</sup>**
- **Hızlı PCR<sup>6</sup>**



<sup>1</sup>Her PCR döngüsü, floresans görüntülemeyle anında izlenir.

<sup>2</sup>"Melting Curve" analizi ile PCR ürününün özgünlüğü saptanır.

<sup>3</sup>PCR'ın log-linear fazında floresans ölçümüyle kinetik kantitasyon yapılır.