

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HYMENOPTERA VENOM ALLERJİSİ TANISINDA VE VENOM  
İMMUNOTERAPİ ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE  
BAZOFİL AKTİVASYON TESTLERİNİN YERİ**

**Hazırlayan  
Tuğba RIHTİM**

**Danışman  
Prof. Dr. İnsu YILMAZ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Ocak 2021  
KAYSERİ**

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HYMENOPTERA VENOM ALLERJİSİ TANISINDA VE VENOM  
İMMUNOTERAPİ ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE  
BAZOFİL AKTİVASYON TESTLERİNİN YERİ**

**(Yüksek Lisans Tezi)**

**Hazırlayan  
Tuğba RIHTİM**

**Danışman  
Prof. Dr. İnsu YILMAZ**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
tarafından TYL-2019-9267 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Ocak 2021  
KAYSERİ**

## **BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK**

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

Tuğba RIHTİM

İmza:

**YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI**

**“Hymenoptera Venom Allerjisi Tanısında ve Venom İmmunoterapi Etkinliğinin Değerlendirilmesinde Bazofil Aktivasyon Testlerinin Yeri”** adlı **Yüksek Lisans Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

**Hazırlayan**  
**Tuğba RIHTİM**

**Danışman**  
**Prof. Dr. İnu YILMAZ**

**İmmünoloji Anabilim Dalı Başkanı**

**Prof. Dr. Mustafa Yavuz KÖKER**

**Prof. Dr. İnsu YILMAZ** danışmanlığında **Tuğba RIHTİM** tarafından hazırlanan “**Hymenoptera Venom Allerjisi Tanısında ve Venom İmmunoterapi Etkinliğinin Değerlendirilmesinde Bazofil Aktivasyon Testlerinin Yeri**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İmmünoloji Anabilim Dalı’nda **Yüksek Lisans tezi** olarak kabul edilmiştir.

06 /01 /2021

**JÜRİ:**

Danışman : Prof. Dr. İnsu YILMAZ .....

Üye : Prof. Dr. Mustafa Yavuz KÖKER .....

Üye : Doç. Dr. Mustafa NİSARİ .....

**ONAY**

Bu tezin kabulü Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun  
..... tarih ve .....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..... /..... / .....

**Enstitü Müdürü****Prof. Dr. Bilal AKYÜZ**

## TEŞEKKÜR

Bu tez projesinin planlanması, yürütülmesi ve yazılmasında göstermiş olduğu destek ve yardımlarından ötürü başta tez danışmanım Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. İnsu YILMAZ'a, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Mustafa Yavuz KÖKER'e, Dr. Öğr.Üyesi Hüseyin AVCILAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İnci GÜLMEZ'e, manevi abim Prof. Dr. Nuri TUTAR'a, diğer hocalarıma, yüksek lisansım ve tezimin her aşamasında bana destek olan çalışma arkadaşlarım Leyla KARAASLAN, biyolog Saadet KOÇ ENGİN, hemşire Lügen SIVACI, Fatma GÜNEŞ, Fatma KARACA, yardımcı teknisyen Suat YILDIRIM, yan dal uzmanlarımız Uzm. Dr. Murat TÜRK ve Uzm. Dr. Sakine NAZİK BAHÇECİOĞLU, yan dal asistanlarımız Uzm. Dr. Gülden PAÇACI ve Uzm. Dr. Bahar ASLAN'a sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmayı yaparken çalışma yöntem ve tekniklerini uygulamaya koymamızda bilgi, tecrübe ve emeklerini esirgemeyen arkadaşlarım biyolog Sevil ÖZSOY, biyolog Sinan KÜTÜK ve Huriye ÇELİKZENCİR'e çok teşekkür ederim.

Beni bu günlere getiren benden sevgilerini ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen canım anneme, sevgili babama ve değerli kardeşlerim Göktürk ve Asena' ya sonsuz teşekkür ederim.

Hayatıma girdiği günden beri her konuda destekçim ve yardımcım olan sevgili eşim Fatih RIHTIM'a, bu zorlu süreçte sabırları ve özverileriyle bana yardımcı olan yaşama sevincim evlatlarım Yusuf RIHTIM ve Elif RIHTIM'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TYL-2019-9267 kodlu proje ile desteklenmiştir. Desteklerinden Dolayı BAP Birimine teşekkür ederim.

Tuğba RIHTIM

Kayseri, Ocak 2021

**HYMENOPTERA VENOM ALLERJİSİ TANISINDA VE VENOM  
İMMUNOTERAPİ ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE BAZOFİL  
AKTİVASYON TESTLERİNİN YERİ**

**Tuğba RIHTIM**

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**İmmünoloji Anabilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi, Ocak 2021**

**Danışman: Prof. Dr. İnsu YILMAZ**

**ÖZET**

**Amaç:** Hymenoptera (arı) venom allerjisi olan hastaların tanısında ve hastalara uygulanan venom immünoterapi (VİT) etkinliğinin değerlendirilmesinde kullanılan bazofil aktivasyon testlerinin (BAT) yerinin ve öneminin gösterilmesi amaçlandı.

**Yöntem:** Çalışmamız arı ile sistemik reaksiyon öyküsü olan ve arı venom duyarlılığı, deri prik testi (DPT) ve/veya spesifik immünglobülin E (sIgE) ölçümü ile tespit edilerek VİT başlanmasına karar verilen 10 hasta ile yürütüldü. VİT öncesi (0. gün), VİT'nin 3. ve 6. ayında olmak üzere üç defa heparin ile antikoagüle tüpe 3ml'lik kanlar alındı. Hastalardan alınan venöz kan örnekleri pozitif kontrol (PK), negatif kontrol (NK) ve 0.1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml olmak üzere üç ayrı dilüsyonda hazırlanan venom ekstraktlarından oluşan test tüplerine ayrıldı ve tüplerdeki bazofil aktivasyonu; CD63 ve CD203c yüzde ve ortalama floresan yoğunluk (mean floresan intensity- MFI) ölçümü yapılarak akım sitometri cihazı ile değerlendirildi.

**Bulgular:** VİT öncesi 0.1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml konsantrasyonlarında CD63 ekspresyonunda, negatif kontrole oranla ortalama % 69.2 artış gösterildi. CD 203c MFI değerlerinde ise 0. günde her üç konsantrasyonda da negatif kontrole oranla ortalama %34 artış saptandı. Ayrıca VİT başlanan hastalara 3. ay ve 6. ay da uygulanan BAT sonuçlarında immünoterapi öncesi CD63 ekspresyonuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu saptandı (p=.0001).

**Sonuç:** Bu araştırma BAT'ın arı venomuna karşı gelişen erken tip aşırı duyarlılık reaksiyonlarında tanısal amaçlı kullanılabileceğini göstermiştir. Ayrıca VİT takiplerinde, immünoterapinin etkinliğinin değerlendirilmesinde BAT'ın faydalı olabileceği gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Bazofil Aktivasyon Testi, Arı Venomu, Venom İmmünoterapi, CD63, CD203c



**BASOPHIL ACTIVATION TESTS FOR THE DIAGNOSIS OF  
HYMENOPTERA VENOM ALLERGY AND FOR THE EVALUATION OF  
THE EFFICACY OF VENOM IMMUNOTHERAPY**

**Tuğba RIHTİM**

**Erciyes University, Graduate School of Healthy Sciences**

**Department of Immunology M.Sc. Thesis, Jan 2021**

**Supervisor: Prof. Dr. İnsu YILMAZ**

**ABSTRACT**

**Purpose:** It was aimed to show the place and importance of basophil activation tests (BAT) used in the diagnosis of patients with hymenoptera venom allergy and evaluation of venom immunotherapy effectiveness.

**Method:** Our study was conducted with 10 patients who had a history of systemic reaction with hymenoptera venom and who decided to initiate venom immunotherapy (VIT) after determining hymenoptera venom sensitivity, skin prick test (DPT) and / or specific immunoglobulin E (sIgE) measurement. Whool blood sample was taken into anticoagulated tube with heparin. First sample was taken before starting VIT (0. d). Other samples were taken 3<sup>rd</sup> and 6<sup>th</sup> mount after starting the maintance dose. Venous blood samples taken from the patients were exposed to positive control, negative control and tree dilutions of 0.1 mg / ml, 1 mg / ml, 10 mg / ml venom extract. CD63 and CD203c measurements were evaluated with flow cytometry device. CD63 and CD203c percentage and mean fluorescence intensity (MFI) were measured and evaluated with flow cytometry.

**Results:** CD63 increasing was shown as 69.2% before VIT in the venom extract dilutions at 0.1mg / ml, 1 mg / ml, 10 mg / ml compare to negative control. The increasing was found positive in all patients. CD 203c MFI values were examined, an average of 34% increase was found in three concentrations at 0. d. In addition CD63 expression was significantly decrease in patients with VIT at the 3rd and 6th months when compared to the baseline CD63 expression (p =.0001.)

**Conclusion:** This study has shown that BAT can be used for diagnostic purposes in early type hypersensitivity reactions to hymenoptera venom and it can be useful in evaluating the effectiveness VIT.

**Key words:** Basophil Activation Test, hymenoptera venom, venom immunotherapy CD63, CD203c.



## İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK .....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	ii
ONAY .....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT .....	vii
İÇİNDEKİLER .....	ix
KISALTMALAR ve SİMGELER .....	xi
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	xiv
1.GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2.GENEL BİLGİLER .....	4
2.1.Klinik Özellikler.....	4
2.1.1. Lokal Reaksiyon .....	4
2.1.2.Allerjik Geniş Lokal Reaksiyon .....	5
2.1.3.Sistemik Allerjik Reaksiyonlar.....	5
2.1.4.Anafilaksi .....	6
2.1.5.Toksik Reaksiyon .....	8
2.2.Hymenoptera Venom Allerjisinde Türler ve Allerjenler .....	8
2.2.1.Venom Allerjenleri.....	11
2.3.Arı Venom Allerjisi Tanı ve Tedavisi.....	14
2.3.1.Klinik öykü.....	14
2.3.2.Deri Testleri.....	15
2.4.İn Vitro Testler .....	15
2.4.1.Spesifik IgE .....	15

2.4.2.Bazal Serum Triptaz .....	16
2.5.Bazofil Aktivasyon Testleri .....	16
2.5.1.Bazofil .....	16
2.5.2.Bazofil Aktivasyon Testi .....	17
2.5.3.BAT Yöntemi .....	18
2.6.Venom İmmünoterapi .....	19
3.GEREÇ VE YÖNTEM .....	21
3.1. Alet ve Ekipman .....	21
3.1.1.Plastik Sarf Malzemeleri .....	22
3.1.2.Kitler ve Kimyasal Maddeler .....	22
3.2. Solusyon ve Kimyasalların Hazırlanması .....	23
3.3. Akım sitometrinin okuma ve analiz için hazırlanması .....	23
3.4.Akım Sitometrik Analiz Uygulamaları .....	23
3.5. Akım Sitometri Örnek Hazırlama İşlem Basamakları .....	24
3.6. Bazofil Hücrelerinin Akım Sitometri ile Tanımlanması .....	25
3.6.1.Arı Venom Allerjisi Olan Hasta Örneklerinde Bazofil Hücre Sayısının Akım Sitometri ile Hesaplanması .....	26
3.7.İstatistiksel Analiz .....	27
4.BULGULAR .....	28
4.1.Bazofil Aktivasyon Testinin Optimizasyonu .....	28
4.2.Çalışmada Hasta Grubu .....	28
4.3.Akım Sitometri Analiz Sonuçları .....	29
5.TARTIŞMA ve SONUÇ .....	50
6. KAYNAKLAR .....	55

EKLER

ÖZGEÇMİŞ

**KISALTMALAR ve SİMGELER**

µl:	Mikro Litre
BAT:	Bazofil Aktivasyon Testi
CD:	Cluster Of Differentiation (Yüzey Farklılaşma Antijenleri)
DPT:	Deri Prick Test
FcεRI:	Anti-IgE' nin Yüksek Afiniteli IgE Reseptörü
FMLP:	N-Formyl-Met-Leu-P
HLA:	Human Leucocyte Antigen (İnsan Lökosit Antijeni)
IL:	İnterlökin
MFI:	Mean Fluorescent İndeks (Floresan Yoğunluğu)
MG/ML:	Miligram/ Mililitre
P:	Probability (Anlamlılık)
PBS:	Phosphate Buffer Saline
sIGE :	Spesifik İmmunglobulin E
VİT:	Venom İmmunoterapi

## TABLOLAR LİSTESİ

<b>Tablo 2.1.</b>	Mueller Sistemik Reaksiyon Sınıflandırması.....	7
<b>Tablo 2.2.</b>	Ring-Meismmer Sistemik Reaksiyon Sınıflandırması.....	7
<b>Tablo 2.3.</b>	Bal arıları ve yaban arıları arasındaki ayırıcı özellikler .....	9
<b>Tablo 2.4.</b>	Arı Türlerinin Özellikleri .....	10
<b>Tablo 2.5.</b>	Hymenoptera Ailesi Taksonomisi.....	11
<b>Tablo 2.5.</b>	Hymenoptera Venom Allerjen Özellikleri .....	13
<b>Tablo 2.6.</b>	Hymenoptera Venom Allerjenleri ve Çapraz Reaksiyonları.....	14
<b>Tablo 4.1.</b>	Hastaların Demografik Özellikleri .....	29
<b>Tablo 4.2.</b>	Fridman test sonuçlarının istatistiksel verileri. ....	36
<b>Tablo 4.3.</b>	Bazofil aktivasyon testi sonucu negatif kontrol (NK) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63 <sup>+</sup> hücrelerin yüzde değişimleri. ....	36
<b>Tablo 4.4.</b>	Bazofil aktivasyon testi sonucu negatif kontrol (NK) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişimleri.....	37
<b>Tablo 4.5.</b>	Bazofil aktivasyon testi sonucu anti-IgE ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63 <sup>+</sup> hücrelerin yüzde değişimleri.....	38
<b>Tablo 4.6.</b>	Bazofil aktivasyon testi sonucu anti-IgE ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişimleri. ....	39
<b>Tablo 4.7.</b>	Bazofil aktivasyon testi sonucu FMLP ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63 <sup>+</sup> hücrelerin yüzde değişimleri.....	40
<b>Tablo 4.7.</b>	Bazofil aktivasyon testi sonucu FMLP ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişimleri. ....	42
<b>Tablo 4.8.</b>	Bazofil aktivasyon testi sonucu 0.1 mg/ml'lik konsantasyon (K0.1) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63 <sup>+</sup> hücrelerin yüzde değişimleri.....	43
<b>Tablo 4.9.</b>	Bazofil aktivasyon testi sonucu 0.1 mg/ml'lik konsantrasyon (K0.1) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişimleri.....	44
<b>Tablo 4.10.</b>	Bazofil aktivasyon testi sonucu 1 mg/ml'lik konsantasyon (K1) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63 <sup>+</sup> hücrelerin yüzde değişimleri.....	45

- Tablo 4.11.** Bazofil aktivasyon testi sonucu 1 mg/ml'lik konsantrasyon (K1) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişimleri..... 46
- Tablo: 4.12.** Bazofil aktivasyon testi sonucu 10 mg/ml'lik konsantrasyon (K10)ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde değişimleri..... 47
- Tablo 4.13.** Bazofil aktivasyon testi sonucu 10 mg/ml'lik konsantrasyon (K10) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişimleri..... 48



## ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 3.1.** Bazofil aktivasyon testi örnek hazırlama işlem basamakları .....25
- Şekil 4.1.** Bazofil aktivasyon testinde 0. günde negatif kontrol(NK), pozitif kontrol(PK) (FMLP,anti-IgE) ile CD63 ve CD203c MFI değerlerinin ve yüzde değerlerinin akım sitometri ile belirlenmesi. .... 30
- Şekil 4.2.** Bazofil aktivasyon testinde 0. gün arı venom titreleri ile CD63 ve CD203c MFI değerlerinin ve yüzde değerlerinin akım sitometri ile belirlenmesi. ....31
- Şekil 4.3.** Bazofil aktivasyon testinde 3. ay negatif kontrol (NK), pozitif kontrol (PK) (FMLP,anti-IgE) CD63 ve CD203c MFI değerlerinin ve yüzde değerlerinin akım sitometri ile belirlenmesi..... 32
- Şekil 4.4.** Bazofil aktivasyon testinde 3. ay arı venom titreleri ile CD63 ve CD203c MFI değerlerinin ve yüzde değerlerinin akım sitometri ile belirlenmesi. ....33
- Şekil 4.5.** Bazofil aktivasyon testinde 6. ay negatif kontrol (NK), pozitif kontrol (PK) (FMLP,anti-IgE) CD63 ve CD203c MFI değerlerinin ve yüzde değerlerinin akım sitometri ile belirlenmesi.....34
- Şekil 4.6.** Bazofil aktivasyon testinde 6. ay arı venom titreleri ile CD63 ve CD203c MFI değerlerinin ve yüzdelerinin akım sitometri ile belirlenmesi. ....35
- Şekil 4.7.** Negatif kontrol (NK) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde dağılım grafiği. ....37
- Şekil 4.8.** Negatif kontrol (NK) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişim grafiği. ....38
- Şekil 4.9.** Anti-IgE ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. Ay CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde dağılım grafiği. ....39
- Şekil 4.10.** Anti-Ige ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişim grafiği. ....40
- Şekil 4.11.** FMLP ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde dağılım grafiği.....41
- Şekil 4.12.** FMLP ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişim grafiği. ....42
- Şekil 4.13.** 0.1 mg/ml'lik konsantrasyon (K0.1)ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde dağılım grafiği. ....43

- Şekil 4.14.** 0.1 mg/ml'lik konsantrasyon (K0.1) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişim grafiği.....44
- Şekil 4.15.** 1 mg/ml'lik konsantrasyon (K1) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde dağılım grafiği. ....45
- Şekil 4.16.** 1 mg/ml'lik konsantrasyon (K1) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişim grafiği. ....46
- Şekil 4.17.** 10 mg/ml'lik konsantrasyon (K10) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay da CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde dağılım grafiği. ....47
- Şekil 4.18.** 10 mg/ml'lik konsantrasyon (K10) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişim grafiği. ....48



## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Erişkin yaş grubunda görülebilen ciddi allerjik reaksiyonların sık nedenlerinden birisi de arı venom allerjisidir. Bal arıları (*Apis mellifera*) ve Avrupada yaban arısı olarak da adlandırılan sarı ceketler (*Vespula vulgaris*) arı allerjisinden sorumlu başlıca arı türleridir (Tankersley ve ark., 2015). Arı sokmalarında görülebilen ağrı, kızarıklık ve şişlik gibi şikayet ve bulgular geçici lokal inflamatuvar reaksiyona sekonder gelişmektedir. Venom bileşenlerine allerjisi olanlarda ise, tekrarlayan arı sokmaları, hayatı tehdit edici reaksiyonlara neden olabilir. Bu hastalarda doğru tanı, etkin tedavi oldukça önemlidir.

Bu amaçla uygulanan DPT ve/veya venom sIgE ölçümü rutin pratikte kullanılan başlıca tanı yöntemleridir (Verh, 2007). Ancak benzer antijenler sebebiyle çapraz reaksiyonlar ve DPT ve/veya sIgE sonuçlarındaki çifte pozitiflikle birlikte hastanın öyküsündeki uyumsuzluklar allerjik reaksiyona sebep olan suçlu allerjenin tespitini de zorlaştırabilir (Roberts ve Lack, 2005). Bu gibi durumlarda erken tip hipersensivite reaksiyonlarının tanısında, in vitro tanı yöntemi olan BAT, DPT ve/veya sIgE ölçümüne göre daha avantajlı olabilmektedir.

Bazofil aktivasyon testi temel olarak, hastadan alınan periferik kan örneğinde, bazofillerin üzerinde yer alan allerjen spesifik IgE'ye çapraz bağlanan allerjenin bazofil yanıtını ölçer. BAT'da, allerjen veya anti-IgE'nin yüksek afiniteli IgE reseptörüne (FcεRI) bağlı olan IgE antikorlarına bağlanmasının ardından upregüle olan bazofillerin yüzeyindeki aktivasyon belirteçlerinin (CD63 ve CD203c) ekspresyonunu ölçmek için akım sitometrisi kullanılır (Roberts ve Lack, 2005).

CD63, bazofil, monosit ve trombositlerde bulunan bir yüzey belirtecidir. Bazofillerde hücre içi granüllerde bulunur ve dinlenme halindeki bazofillerde eksprese edilmez. Bazofillerin antijen spesifik IgE aracılı olarak aktive edilmesi sonrasında hücre içi

granüllerle hücre membranı arasında füzyon meydana gelir ve CD63 molekülü bazofil yüzeyinde eksprese edilmeye başlar (Frezzolini ve ark., 2006).

CD203c, ektonükleotid pirofosfataz/fosfodiesteraz ektoenzimidir. Bazofiller, mast hücreleri, periferik kandaki CD34+ progenitör hücrelerden salınan hücre aktivasyon belirteçidir (Yasnowsky ve ark., 2006). CD203c'nin bazofil aktivasyonunu değerlendirmede CD63'e göre daha duyarlıdır. Akım sitometri ile yapılan çalışmalarda her iki yüzey molekülünün birlikte değerlendirilmesi önerilmektedir (Ebo ve ark., 2006).

VİT arı sokmalarına bağlı anafilaksi riski yüksek olan kişilerde etkinliği kanıtlanmış tek tedavi şeklidir. Arı venomlarıyla yapılan VİT sonrası arı sokmasında yaşanabilecek sistemik reaksiyon riski %5'in altına düşerken, VİT uygulanmayanlarda bu riskin %60'a kadar yükseldiği bildirilmiştir. Arı sokmasına karşı VİT ile tolerans gelişmesinin sağlandığı ortaya konulmakla birlikte tedavinin mekanizması kesin olarak bilinmemektedir. Ancak son yıllarda regülatör T (Treg) hücrelerden IL-10 ve TGF-beta salınımının antijene karşı immün regülasyon oluşumunda önemli rol oynadığı bulunmuştur. VİT, arı sokmasından sonra sistemik reaksiyon gelişen ve tanısı DPT, sIgE testleri konulan kişilerde uygulanmalıdır (Aydın ve Sin, 2008). Etkinliği, yaban arısı allerjisi olan hastalarda yaklaşık %95, bal arısı allerjisi olanlarda % 75-85'dir (Ruëff ve ark., 2001; Hemmings ve ark., 2018). Bazen, korumayı sağlamak için standart idame dozunu arttırmak gerekebilir (Ruëff ve ark., 2001).

Arı sokması sonrası ciddi sistemik reaksiyon (anafilaksi) öyküsü olan hastalarda DPT ve/veya intradermal testlerin uygulanması esnasında sistemik reaksiyonlar görülebilir. Bu nedenle bazı hastaların venom duyarlılığının gösterilmesinde zorluklar yaşanmaktadır. Venom allerjisini tespit etmede duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek girişimsel olmayan bir test, daha fazla tercih edilecek tanı metodu olacaktır. BAT venom allerjisinin teşhisi için çok hassas ve spesifik bir yöntemdir. Yüksek özgüllüğü (%83-100) ve duyarlılığı (% 85-100) antijen stimülasyonunu takiben ortaya çıkan hücrel yanıtın gerçek zamanlı gösterilmesinden kaynaklanmaktadır. BAT ile in-vivo yaşanan IgE aracılı erken tip aşırı duyarlılık reaksiyonu, in-vitro tüp ortamına taşınmaktadır. Bu nedenle DPT ve sIgE ölçümüne göre daha kullanışlı ve yararlıdır. Bu özelliğiyle BAT hem antijen duyarlılığının tespitini, hem de VİT etkinliğinin değerlendirilmesini mümkün kılar (Hemmings ve ark., 2018 ).

Bu çalışmada öykü, DPT, sIgE ölçümleri ile tespit edilen arı venom alerjisinin BAT ile de tespiti yapılmıştır. Ayrıca, öykü ve testler ile doğrulanan arı venom allerjisi saptanan hastalara uygulanan immünoterapinin etkinliği BAT ile değerlendirilmiştir.

Arı VİT etkinliğinin BAT ile değerlendirilmesinin en büyük avantajı bu testin girişimsel bir test olmamasıdır. Günümüzde arı VİT etkinliği, VİT idame sürecinde hastayı doğal yollarla arı sokması ya da canlı arılar ile provokasyon yapılması ile kesin olarak anlaşılabilir. Fakat etik nedenler ve olası ciddi sistemik reaksiyonlar nedeniyle VİT etkinliğini değerlendirebilecek girişimsel olmayan yöntem arayışları içerisine girilmiştir. Bu yöntemlerden birisi de VİT etkinliğinin BAT ile değerlendirilmesidir. Gelişmiş ülkelerde artık arı VİT etkinliğini değerlendirmede BAT araştırma amaçlı olmaktan çıkmaya başlamış, klinik olarak kullanılabilir hale gelmiştir. Bizim de amacımız bu yöntemin arı allerjisi tanısının doğrulanmasında kullanılabilir bir test olabileceğini ve VİT etkinliğinin değerlendirilmesinde de yararlı bir test olabileceğini göstermektir.

## **2.GENEL BİLGİLER**

Böcek sokmaları olgularının büyük kısmını arılar oluşturmaktadır. Arı sokmaları erişkinlerde anafilaktik reaksiyonların en sık nedenidir. Çocuklarda, gıda ile ilişkili anafilaksiden sonra, erişkinlerde de ilaç anafilaksilerinden sonra ikinci en yaygın anafilaksi nedenidir. Arı anafilkasilerinden sorumlu olan türlerin başında bal arıları ve yaban arıları gelmektedir (Adip ve Bayerl, 2018). Belirli mesleki risk olmadıkça; çoğu insanın her 10-15 yılda, yaban arısı tarafından sokulma ihtimali vardır (Ewan, 1998). Genel popülasyonun %56.6-94.5'i hayatları boyunca en az bir kez arılar tarafından sokulmuştur (Dhami ve ark., 2017; Sturm ve ark., 2018). Arı venomuna karşı allerjik reaksiyon genellikle arılar tarafından sık sokulan kişilerde görülmektedir. Arılara allerjisi olan insanların çoğu, arıcılar, aileleri ya da komşularıdır. Yaban arısı venomuna karşı duyarlanma birkaç sokulmada olabileceği gibi tek bir sokulmada da gelişebilir (Ewan, 1998). Genel popülasyonda duyarlanma oranı erişkinlerde %27-40 iken çocuklarda %50'nin üzerindedir (Adip ve Bayer, 2018).

### **2.1.Klinik Özellikler**

Arı sokmaları sonrasında görülen allerjik reaksiyonlar; lokal reaksiyon, geniş lokal reaksiyon (10cm çapından büyük), sistemik reaksiyonlar ve anafilaksi şeklinde görülür. Reaksiyonun ortaya çıktığı zamana göre erken ya da geç reaksiyonlar olarak iki grupta incelenir. Bal arısı veya yaban arısı sokması sonrası allerjik olmayan reaksiyonlar genellikle, lokal ağrı, eritem ve 1 cm kadar ulaşan ödem şeklindedir. Allerjik reaksiyonlar ise lokal ya da sistemik olabilir (Ewan, 1998).

#### **2.1.1. Lokal Reaksiyon**

Arı sokmaları sonrası en sık görülen reaksiyonlardır (%96-98). Arı sokmasını takiben sokulan bölgede lokal ağrı, eritem ve şişlik gelişir. Arı allerjisi olmayan normal kişilerde arının soktuğu yerde oluşur ve IgE aracılı (tip I aşırı duyarlılık reaksiyonu) bir

reaksiyon değildir. Küçük lokal reaksiyonların ortasında 2 cm'yi bulabilen lokal kabartı ve bazen kaşıntı olabilir. Genellikle birkaç saat içinde geriler, soğuk kompres ve analjezik dışında ek bir tedavi gerektirmez (Canitez ve ark., 2017).

### **2.1.2.Allerjik Geniş Lokal Reaksiyon**

Arı sokmaları sonrası küçük lokal reaksiyonlardan sonra ikinci sık görülen reaksiyonlardır (%5-25). Arının soktuğu bölgedeki şişlik ve kızarıklık 10 cm veya daha büyük boyuta ulaşır. Genellikle geç yanıt sonucu oluşur ve sokmadan 24-48 saat sonra şişlik ve kızarıklık en yüksek düzeye ulaşır. Reaksiyon çapı sıklıkla 20 cm'yi aşar ve bazen bütün bir kol veya bacağı tutabilir. Reaksiyon ağır ise halsizlik ve bulantı ile birlikte görülebilir. Reaksiyonun düzelmesi bir hafta veya on güne kadar uzayabilir (Canitez ve ark., 2017).

Geniş lokal reaksiyonların tedavisinde; soğuk kompres, ekstremitenin yüksekte tutulması, ağrı kesici ilaçlar ve oral antihistaminik, gerekli olursa kısa süreli kortikosteroid verilebilir. Kortikosteroid tedavisi, geniş lokal reaksiyon özellikle baş ve boyun gibi riskli bölgelerde oluştuğunda ivedilikle uygulanmalıdır. Bu olgularda (özellikle deri testleri pozitif olan) daha sonraki arı sokmalarında anafilaksi gelişme olasılığının %5-10 arasında olduğu bildirilmektedir. Bu nedenlerden dolayı geniş lokal reaksiyon görülen olguların allerji uzmanına danışılması gerekir (Canitez ve ark., 2017).

### **2.1.3.Sistemik Allerjik Reaksiyonlar**

Arı sokmasına bağlı sistemik allerjik reaksiyonlar IgE aracılı tip I aşırı duyarlılık reaksiyonlarıdır. Hafif sistemik reaksiyonlar IgE aracılı reaksiyonlardır ve kaşıntı, ürtiker, hafif anjiyoödem şeklinde seyrederler. İzole deri reaksiyonları orta ve ağır sistemik reaksiyonlara oranla daha siktir ve arının soktuğu alandan bağımsız olarak derinin başka bölgelerinde yaygın kaşıntı, kızarıklık, ürtiker veya hafif anjiyoödem görülür. Baş ve boyun bölgesindeki arı sokmalarında şişlik bazen göz kapaklarına da yayılabilir.

Akut ürtiker veya anjiyoödem, çocuklarda erişkinlere göre %60 daha sık görülmektedir. Anafilaksi ise erişkinlerde daha siktir. Arı sokması sonrasında ürtiker veya hafif anjiyoödem gibi hafif sistemik reaksiyon tarif eden erişkin olguların bir kısmında daha sonraki arı sokmalarında daha ciddi sistemik reaksiyonlar görülebileme riski nedeniyle

bu hastalar allerji uzmanına yönlendirilmeli ve VİT açısından değerlendirilmelidir. Hastaya eğitim verilerek korunma önlemleri anlatılmalı, epinefrin oto enjektörü reçete edilmelidir (Canitez ve ark., 2017; Sahiner ve Durham, 2019).

Arı sokması sonrası ağır anafilaksi gelişen hastaların %25'inden fazlasında bazal triptaz seviyelerinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca arı sokması sonrası sistemik reaksiyon yaşayan olguların %1-2'sinin mastosizitoz varlığı saptanmıştır. Ciddi sistemik reaksiyonu olan hastalar mast hücre hastalıkları yönünden araştırılması önerilmektedir (Canitez ve ark., 2017; Schiener ve ark., 2017; Sahiner ve Durham, 2019; Pucca ve ark., 2019).

#### **2.1.4. Anafilaksi**

Arı sokması sonrası oluşan sistemik reaksiyonlar sonucu deride ürtiker, anjiödem, kızarıklık, kaşıntı; solunum sisteminde göğüs ağrısı, stridor, wheezing, dispne; kardiyovasküler sistemde taşikardi, hipotansiyon; gastrointestinal sistemde kramplar, ishal, bulantı, disfaji, kusma semptom ve bulguları şeklinde ortaya çıkabilir. Anafilaksi bilinen bir allerjen sonrası yukarıdaki sistemlerden en az ikisinin tutulmasıdır. Eğer bilinen bir allerjen yoksa cilt ve mukoza bulgusuna ek olarak diğer sistemlerden birisinin tutulumunun olması gerekir. Sistemik reaksiyonlar şiddetine göre sınıflandırılır. En sık Mueller ve Ring-Meisner sınıflandırılması kullanılır (Gezer ve ark., 2012). (Tablo 1-2).

Cilt lezyonları izole olarak yetişkinlerde % 16 oranında, çocuklarda %60 oranında görülür. Anafilaksi ise yetişkinlerde daha siktir (Gezer ve ark., 2012). Yapılan çalışmalara göre sistemik reaksiyon oranı erişkinlerde %3-7.5 çocuklarda % 3.4'ün üzerindedir (Adip ve Bayerl, 2018). Arıcılar arı sokması ve allerjik reaksiyon bakımından yüksek risk grubundadırlar. Sistemik reaksiyon görülme oranı genel popülasyona oranla %14-38 daha yüksektir (Sahiner ve Durham, 2019).

**Tablo 2.1.** Mueller Sistemik Reaksiyon Sınıflandırması**Mueller'e Göre Sistemik Reaksiyon Sınıflandırılması**

- Grade 1 Ürtiker, kaşıntı, kızarıklık, anksiyete, dudak, dil ve uvula şişmesi
- Grade 2 Yukardakilerden herhangi biri + en az iki ve üzeri semptom: Anjioödem, göğüs sıkışması, bulantı kusma, karın ağrısı ve ishal
- Grade 3 Yukardakilerden herhangi biri + en az iki ve üzeri semptom: dispne, wheezing, stridor, ses kısıklığı, konfüzyon
- Grade 4 Yukardakilerden herhangi biri + en az iki ve üzeri semptom: hipotansiyon, kollaps, bilinç kaybı, inkontinans, siyanoz

**Tablo 2.2.** Ring-Meismer Sistemik Reaksiyon Sınıflandırması**Ring-Meismer'e Göre Sistemik Reaksiyon Sınıflandırılması**

- Evre 1 Ürtiker, kaşıntı, kızarıklık, anjioödem
- Evre 2 Hafif ve orta dereceli pulmoner, kardiovasküler ve gastrointesiyinal sistem semptomları
- Evre 3 Anafilaktik şok, bilinç kaybı
- Evre 4 Kardiak arrest, apne

### 2.1.5.Toksik Reaksiyon

Arı sokmasına bağlı toksik reaksiyon aynı anda 50 ve daha fazla arı sokmasına bağlı olarak gelişir. En çok Afrika bal arısı sokmasına bağlı olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir. Arı venomunda bulunan vazoaktif ve enzimatik maddelerin oluşturduğu allerjik olmayan reaksiyonlardır. Baş ağrısı, bulantı, kusma, ateş, konvulziyon, hipotansiyon, dolaşım bozukluğu, renal yetmezlik, hemoliz, geçici solunum sıkıntısı, şok ve ölüm görülebilir. Toksik reaksiyon sonrası duyarlanma gelişebilir ve arı allerjenleri ile yapılan deri testleri pozitif ise sonraki arı sokmalarında anafilaksi görülebilir. Sistemik toksik reaksiyonlarla anafilaksi ayırımında, reaksiyondan 1-3 saat içinde bakılan serum triptaz düzeyi faydalı olabilir. Serum triptaz düzeyi yüksekliği anafilaksi lehinedir (Canitez ve ark., 2017). Çok sayıda arı sokması sonrası bilinmeyen mekanizmalarla; serum hastalığı benzeri reaksiyonlar, ensefalit, nöropatiler, glomerulonefrit, miyokardit ve Guillain-Barre sendromu gibi geç tip reaksiyonlar çok nadir de olsa görülebilir. Fatal reaksiyonlar 200 ile 1000 arının sokması sonucu görülür (Gezer ve ark., 2012; Canitez ve ark., 2017).

### 2.2.Hymenoptera Venom Allerjisinde Türler ve Allerjenler





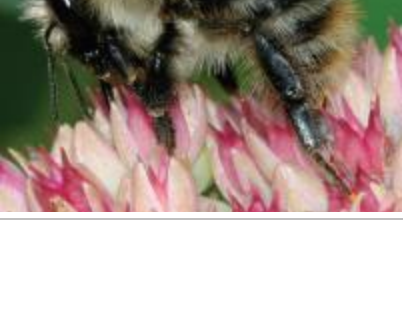
Arı venom allerjisinin tedavisinde hastayı sokan türün belirlenmesi teşhis ve tedavi planlanması açısından önemlidir. Tanı ve tedavi açısından sadece hasta öyküsüne güvenilmemelidir. Yapılan bir çalışmada hastaların üçte birinin yaban arısı türünü tanımlayamadığı görülmüştür. Ayrıca katılımcıların %10 kadarı bal arısını tanımlayamazken, %50' den fazlası yaban arısının bir başka türü olan *polistes* türünü ayırt edememiştir. Genel olarak bal arıları kişiyi soktukten sonra iğnesini deride bırakır ve yaban arılarıyla bu şekilde ayırt edilebilir. Fakat yaban arılarının da bal arıları kadar sık olmasa da iğnelerini deride bıraktıkları durumlar vardır. Bu nedenle öyküde sokulan arı türünü ayırmada bu kriter de çok güvenilir olmayabilir (Adip ve Bayerl, 2018)

Bal arıları ve yaban arıları arasındaki ayırıcı özellikler tablo 2.3 ve 2.4'de, hymenoptera taksonomisi tablo 2.5 'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.3.** Bal arıları ve yaban arıları arasındaki ayırıcı özellikler

Bal Arısı ( <i>Apis mellifera</i> )	Yaban Arısı ( <i>Vespula spp.</i> )
Kovanın dışında oldukça sakinidir	Oldukça agresiftir
İlkbahar ve yaz mevsiminde görülür	Yaz ve sonbahar mevsiminde görülür
İğne ve zehir kesesini genellikle ciltte bırakır	İğne ve zehir kesesini genellikle ciltte bırakmaz
Kovan çevresinde ve çiçeklerin etrafında görülür	Yiyeceklerin ve çöplerin çevresinde görülür

**Tablo 2.4.** Arı Türlerinin Özellikleri (Krishna ve ark., 2011 )

Tür	Özellik	Resim	Görülme Zamanı
<b>Wasp</b> ( <i>Wespula vulgaris</i> )	19 mm uzunluğunda, siyah çizgili sarı kafa, sarı kenarlı siyah toraks, siyah bantlı sarı karın, siyah antenler ve sarı bacaklar, agresif, ince kancalı iğne		Mart- Ekim
<b>European Hornet</b> ( <i>Vespa crabro</i> )	35 mm uzunluğunda, kırmızımsı kahverengi kafa, siyah ve kahverengi gölgeli toraks, sarı ve siyah gölgeli karın.		Mart- Ekim
<b>Paperwasps</b> ( <i>Polistes</i> )	Daha az agresif, iğnesini kaybetmez ,bel bölgesi ince		Mart-Ekim
<b>Honey bee</b> ( <i>Apis mellifera</i> )	12.7–25.3 mm, kısa yoğun tüylerle kaplı, genellikle altın kahverengi ve siyah, çizgili karın		Mart- Ekim Bazen sıcak kış günleri
<b>Bumble Bee</b> ( <i>Bombus pascuorum</i> , <i>Bombus lapidarius</i> , <i>Bombus pratorum</i> , <i>Bombus terrestris</i> , <i>Bombus lucorum</i> , <i>Bombus hortorum</i> )	19.1-38mm kafadan kuyruğa, siyah ve sarı yumuşak vücut tüyleri genellikle bantlarda, bazılarının vücutları turuncu veya kırmızı veya tamamen siyah görünür.		Şubat- Ekim

**Tablo 2.5.** Hymenoptera Ailesi Taksonomisi

HYMENOPTERA TAKSONOMİSİ				
<b>SIRA</b>	Hymenoptera			
<b>ÜST-AİLE</b>	Apoidae	Vespoidea		
<b>AİLE</b>	Apidae	Vespidae		
<b>ALT-AİLE</b>	Apinae	Polistinae	Vespinae	
<b>CİNS</b>	Apis	Polistes	Vespula	
<b>ALT-CİNS</b>			V sensu	Dolichovespula
<b>TÜR</b>	<i>A mellifera</i> <i>Africanized honeybee</i> <i>Bombus</i>	<i>P fuscatus</i>	<i>V vulgaris</i> <i>V squamosa</i> <i>V germanica</i>	<i>D arenaria</i> <i>D maculata</i>

### 2.2.1. Venom Allerjenleri

Venom bileşimi ve allerjenlerin yapısı hakkındaki bilgi, arı venom allerjisinin doğru teşhisi ve tedavisi için oldukça önemlidir (Biló ve ark., 2005, 2019). Arı venomları, biyojenik aminler, yüksek moleküler ağırlıklı proteinler, bazik peptitler, toksinler ve birçoğu enzimatik aktiviteye sahip düşük moleküler ağırlıklı maddelerden oluşan kompleks karışımlardır (Tomsitz ve Brockow, 2017).

Arı sokması sonrasında açığa çıkan venom miktarı, türden türe ve hatta aynı tür içinde bile değişiklik gösterebilir. Bal arıları (*Apis mellifera*), her bir arı sokmasında ortalama 50-140 µg kadar venom proteini salgılar. Bununla birlikte, venom keseleri 300 µg'dan fazla venom içerebilir. *Bumble bee* sokmaları 10-31 µg venom salgırlarken, yaban arıları (*Vespidae spp.*) genellikle daha az venom enjekte ederler. Yaban arı sokmaları 1.7-3.1 µg venom salgırlarken ve *Polistes* sokmaları 4.2-17 µg venom proteini salgırlar. Avrupa yaban arısı “European Hornet” (*Vespa crabo*) sokmasıyla enjekte edilen venom miktarı net olarak bilinmemektedir fakat kese başına kuru venom ağırlığı 260 µg olarak bulunmuştur (Biló ve ark., 2005).

Bal arısı venomundaki en önemli allerjen, 134 aminoasit bileşenine sahip bir glikoprotein olan fosfolipaz A2 (Api m 1)'dir. Fosfolipaz A2 bir sitotoksin ve sitolizin

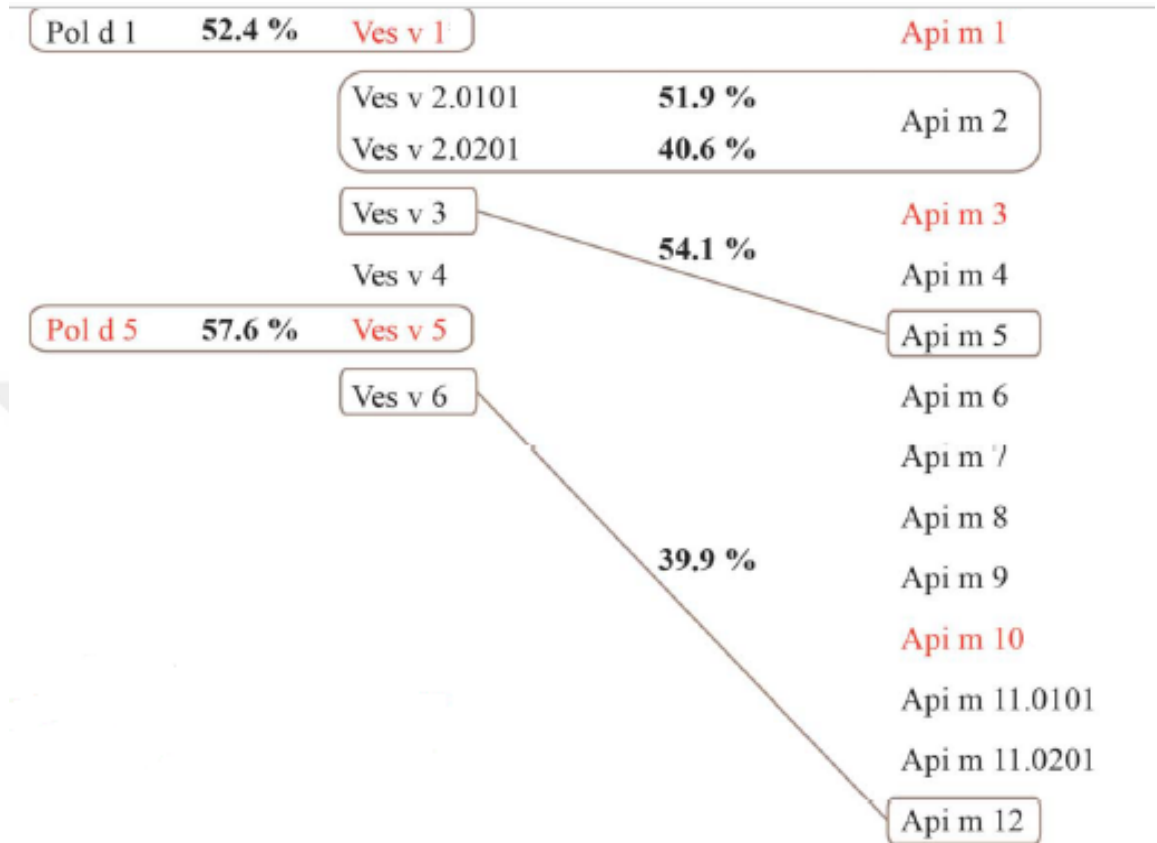
görevi görür. Fosfolipaz A2 bal arısı venomunun kuru ağırlığının %12-15'ini oluşturur. Bal arısı venomunun bir başka önemli allerjeni olan hyaluronidaz (Api m 2), vespid venom hyaluronidazı ile %50 dizi özdeşliği taşır. Asit fosfataz (Api m 3), kısmen klonlanmış ve dizilenmiş 49 kDa'lık bir enzimdir. Proteaz, yaklaşık 39 kDa molekül ağırlıklı majör bir allerjendir. Bal arısı venomu, 71 amino asitten oluşan %1-2 serin proteaz inhibitör (Api m 6 içerir). Melittin (Api m 4) majör bir arı venomu bileşenidir (kuru ağırlığın %50'si) ve 26 amino asit bileşeninden oluşur, ancak hastaların sadece %28'inde bu peptide karşı sIgE antikorları vardır. Bombus arısı venomu fosfolipaz A2 (Bom p 1), proteaz (Bom p 4), hyaluronidaz asit fosfataz ve bal arısı venomunda bulunmayan birkaç proteini içerir.

Yaban arısı venomundaki başlıca allerjenler, Antijen 5 (Ves v 5), Hyaluronidaz (Ves m 2), Proteazlar ve fosfolipaz A1'dir. Fosfolipaz A1, yaban arısı venomunun toplam kuru ağırlığının %6-14'ünü içerir. Farklı türler tarafından üretilen allerjenik moleküllerin yapısal bileşimindeki yüksek homoloji nedeniyle çapraz reaksiyon oluşabilir. Örneğin: Api m 5 - Ves v 3; Api m 2 , Ves v 2 ve Api m 12 - Ves v 6 ile çapraz reaksiyonlar oluşturur. Avrupa kâğıt yaban arısı (*Polistes dominula*) venomu hariç çoğu venomda tespit edilebilen MUXF3 veya bromelain gibi çapraz reaktif karbonhidratlar da (CCD)] çapraz reaktiviteden sorumlu olabilir (Tomsitz ve Brockow, 2017; Antolín-Amérigo ve ark., 2018).

**Tablo 2.5.** Hymenoptera Venom Allerjen Özellikleri (Mw: moleküler ağırlık, Dw: kuru ağırlık ) (Schiener ve ark., 2017).

Allerjen	İsim/Fonksiyon	Mw(Kda)	% Dw	Glikolizasyon
Bal Arısı ( <i>Apis mellifera</i> )				
Api m 1	Fosfolipaz A2	17	12	1
Api m 2	Hyaluronidaz	45	2	3
Api m 3	Asit Fosfataz	49	01.Şub	2
Api m 4	Mellitin	3	50	0
Api m 5	Allerjen C/DPP 4	100	<1	6
Api m 6	Proteaz İnhibitör	8	01.Şub	0
Api m 7	Proteaz	39	?	3
Api m 8	Karboksilestiraz	70	?	4
Api m 9	Karboksipeptidaz	60	?	4
Api m 10	İkarapin	55	<1	2
Api m 11.0101	MRJP8	65	?	6
Api m 11.0201	MRJP9	60	?	3
Api m 12	Vitelogellin	200	?	1
Yaban Arısı ( <i>Vespula vulgaris</i> )				
Ves v 1	Fozfolipaz A 1	35	6-14	0
Ves v 2.0101	Hyaluronidaz	45	1-3	4
Ves v 2.0201	Hyaluronidaz (İnaktif)	45	?	2
Ves v 3	DPP4	100	?	6
Ves v 5	Antijen 5	25	5-10	0
Ves v 6	Vitelogellin	200	?	4
Polistes ( <i>Polistes dominula</i> )				
Pol d 1	Fosfolipaz A1	34		1
Pol d 4	Proteaz	33		6
Pol d 5	Antijen 5	23		0

**Tablo 2.6.** Hymenoptera Venom Allerjenleri ve Çapraz Reaksiyonları (Schiener ve ark., 2017).



### 2.3.Arı Venom Allerjisi Tanı ve Tedavisi

#### 2.3.1.Klinik öykü

Sistemik reaksiyon öyküsü olan tüm hastalar, daha ileri araştırmalar için bir allerji uzmanına yönlendirilmelidir. Hastanın öyküsünde arı sokma bölgesi, sayısı, tarihi, sokulduktan sonra meydana gelen reaksiyonun zamanı, semptomların türü ve şiddeti sorgulanmalıdır. Çıkarılan iğne ve sokulma öncesi ortamda bulunan risk faktörleri sorgulanarak suçlu arının tanımlanmasını sağlayacak ipuçları aranmalıdır. Acil tedavi, ilk sistemik reaksiyon sonrası tolere edilebilen sokmalar ve diğer allerjiler gibi konularda hastadan ayrıntılı hikaye alınmalıdır. Geçmişte uygulanmış allerji tedavilerin kayıtları hekim tarafından incelenerek venom immünoterapi planlaması yapılmalıdır (Biló ve ark., 2005; Krishna ve ark., 2011; Schiener ve ark., 2017).

### **2.3.2.Deri Testleri**

Bir hastada arı sokmalarından sonra, sistemik reaksiyonlar varsa, deri testleri yapılmalıdır. Deri testi, arı venom allerjisi için altın standart bir testtir. Deri testi, DPT ve intradermal test olarak ikiye ayrılır. İntradermal test deri prick testine göre daha hassas bir tanı metodudur. Deri testleri; serum sIgE sonuçlarına göre, hasta öyküsüyle daha uyumlu sonuçlar verir (Krishna ve ark., 2011; Biló ve ark., 2005).

Yanıtsız dönemde yanlış negatif sonuçların ortaya çıkmasını önlemek için, reaksiyondan en az 2 hafta sonra deri testleri yapılmalıdır. Yanıtsız dönem süresi daha uzun olabileceğinden, sistemik reaksiyon öyküsü olan hastalarda deri testleri negatif bulunduğu testler 1-2 ay sonra tekrarlanmalıdır.

Deri testleri için arı venomlarından hazırlanmış standardize materyallerin kullanılması önerilir (1-100 µg/ml). Deri testi yapılırken bal arısı, yaban arısı allerjenleriyle birlikte, pozitif kontrol (histamin) ve negatif kontrolde uygulanmalıdır. DPT sonucu negatif çıkan hastalara artan konsantrasyonlar uygulanarak (0.001 mcg/mL, 0.01 mcg/mL 0.1 mcg/mL, 1 mcg/mL) intradermal deri testi yapılır. Bir konsantrasyonda kesin pozitiflik saptandığında test sonlandırılır (Biló ve ark., 2005).

### **2.4. İn Vitro Testler**

#### **2.4.1. Spesifik IgE**

Spesifik IgE testi akredite bir patoloji laboratuvarında yapılmalıdır. Seruma özgü sIgE, standartlaştırılmış katı faz enzim analizi ile yapılır. Pozitif kabul edilen cut of değeri 0.35 kU/L seviyesidir. Bazı hastalarda deri prick testi ve sIgE testi sonuçları korelasyon göstermez. Bu durumda hastanın testi kliniği ile birlikte değerlendirilmelidir.

Serum sIgE testi, DPT'inin negatif sonuç verdiği veya çapraz reaksiyon sonucu çift pozitiflik verdiği durumlarda yapılır. Yaban arısı ve bal arısı venomuna karşı çift pozitiflik, hastaların yaklaşık %30'unda görülür. Hasta sadece bir türe klinik olarak allerjiktir fakat bazı karbonhidrat ligandları ile venoma özgü IgE'nin çapraz reaktivitesinden dolayı testlerde çift pozitiflik görülür (Krishna ve ark., 2011).

### **2.4.2.Bazal Serum Triptaz**

Bazal serum triptaz (bST) mast hücre aktivitesinin bir göstergesidir. Normal değeri genellikle  $<11.4 \mu\text{g} / \text{L}$  olarak kabul edilmektedir. Arı venom allerjisi olan yetişkinlerde, şiddetli reaksiyonlar, yüksek bST seviyeleri ile ilişkilidir. Sürekli yükselen  $> 11.4 \mu\text{g} / \text{L}$  bST seviyeleri mastositoz açısından anlamlıdır. Sistemik mastositozu olan hastalarda genellikle bST seviyeleri  $> 20 \mu\text{g} / \text{L}$ 'dir. bST seviyeleri  $<20 \mu\text{g} / \text{L}$  olan kutanöz mastositoz ise genellikle kemik iliği tutulumu ile ilişkilidir. Arı sokmalarına sistemik ani tip reaksiyonları olan yetişkinlerde ve şiddetli reaksiyonları olan çocuklarda bST seviyelerinin belirlenmesi gerekir (Adip ve Bayerl, 2018).

### **2.5.Bazofil Aktivasyon Testleri**

#### **2.5.1.Bazofil**

Bazofil hücreleri insanlarda periferik kan lökositlerinin %1'in den daha azını oluşturur. İlk olarak 1879'da Paul Ehrlich tarafından tanımlanmıştır. Bazofiller, sitoplazmalarındaki bazofilik granüller ve hücre yüzeylerinde FcεRI bulundurmaları gibi özellikleri bakımından dokuda yerleşik mast hücreleriyle benzer özellikler göstermelerine rağmen, lokalizasyonları ve ömrüleri dahil olmak üzere çeşitli yönlerden farklılıklar gösterirler. Bazofiller periferik kanda bulunur ve inflamasyon bölgelerine göç eder. Mast hücreleri ise periferik dokularda bulunur ve nadiren kanda tespit edilir. Bazofillerin ömrü 60 saat kadarken mast hücrelerinin ise 2-3 hafta kadardır (Miyake ve Karasuyama, 2017).

Bununla birlikte, bazofiller, allerjik inflamasyon, parazit enfeksiyonları, geç tip allerjik reaksiyonlar ve anafilakside önemli rol oynarlar. Atopik dermatit, astım ve allerjik rinit gibi allerjik hastalıkların yanı sıra otoimmün hastalıklar ve kanser dahil olmak üzere birçok hastalıkta periferik kanda bulunan bazofil hücre sayılarının arttığı rapor edilmiştir (Nakashima ve ark., 2018).

### 2.5.2. Bazofil Aktivasyon Testi

Bazofil aktivasyon testi; bazofillerin allerjen ile uyarılması sonunda hücre yüzeyinde ve hücre içinde bulunan CD63 ve CD203c aktivasyon belirteçlerinin akım sitometri yöntemiyle ölçülmesi prensibine dayanır (Giavina-Bianchi ve ark., 2017). CD63 ve CD203c aktivasyon belirteçlerindeki değişiklikler, belirli florokromlara bağlanmış spesifik monoklonal antikolar kullanılarak ölçülür. Kan bazofil hücrelerini tanımlamak için IgE, CD123 HLA-DR ile CCR3 veya CRTH2 CD3 ile ve CD203c gibi farklı hücre yüzey belirteçleri kullanılır (Santos ve Lack, 2016; Eberlein, 2020).

Allerjen uyarımı ile IgE yüksek afiniteli FcεR1 reseptörüne bağlanarak bazofilleri aktive eder. Bazofillerin aktive olması sonucu, bazofiller sadece bioaktif mediatörleri salgılamakla kalmaz aynı zamanda farklı aktivasyon belirteçlerini sentezler. Bazofillerde meydana gelen bu değişiklikler, spesifik monoklonal antikolar kullanılarak çok renkli akım sitometrisi ile tek hücre bazında tespit edilebilir. Bazofil aktivasyonu için akım sitometrik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan yüzey belirteçleri CD63 ve CD203c'dir (Boumiza ve ark., 2005).

CD63 transmembran-4 süper ailesinin bir üyesidir. Başta bazofiller olmak üzere, doku mast hücreleri, makrofajlar ve trombositler gibi farklı hücre tipleri tarafından sentezlenir. CD63 aktive olmamış bazofillerde ve mast hücre yüzeyinde bulunmaz ve hücre içi granüllere tutunmuş halde bulunurlar. Bazofillerin aktivasyonu sonucunda hücre yüzeyinde ekspresyonu artar. CD203c bazofiller ve mast hücrelerinin yüzeyinde yapısal olarak düşük seviyelerde ifade edilir ve hücre aktivasyonu ile ekspresyonu artar. Periferik kanda CD203c sadece bazofillerin hücre yüzeyinde bulunur. Başka hiçbir hücre yüzeyinde bu belirteci eksprese ettiği bildirilmemiştir. CD203c, spesifik allerjen uyarımına yanıt olarak çok hızlı bir şekilde bazofil hücre yüzeyinde eksprese edilir (<5 dakika). Bu nedenle, CD203c allerjen stimülasyonu sonrasında, aktivasyon teşhisi için yeni bir biyolojik belirteç olarak önerilmiştir (Boumiza ve ark., 2005; Ebo ve ark., 2006; Santos ve Lack, 2016).

Allerjen stimülasyonu sonrası hücre yüzeyi CD63 ekspresyonunda, ortalama floresan yoğunluk (mean floresan intensity-MFI) sinyalinde ani ve bariz bir yükselişe, logaritmik kaymaya (log-shift) yol açar. CD203c ekspresyonu, normal/bazal durumda hücre yüzeyinde belli oranda zaten eksprese edilmekle beraber, aktivasyon sonrasında ise

CD203c ekspresyonunu yansıtan MFI sinyalinde önemli derecede artışla kendini gösterir (Sturm ve ark., 2010).

### 2.5.3.BAT Yöntemi

Bazofil aktivasyon testi için alınan kanın doğru örneklenmesi ve korunması, bazofillerin optimal hücresel canlılık ve işlevsellik elde etmek için kritik öneme sahiptir. İdeal bir analiz, koruyucu ve endotoksinsiz tüplerde örneklemeden sonra 3 saat içinde yapılmalıdır. Bu koşullar altında, tüpler (heparin veya etilendiamin tetraasidik asit (EDTA)) oda sıcaklığında tutulabilir. Daha uzun süreli koruma için (önerilen maksimum 24 saat), EDTA ve 4 ° C'de saklanarak kullanılabilir. Hücre uyarımı için ham allerjen ekstraktları veya saflaştırılmış rekombinant allerjenler kullanılır. Bazofillerin spesifik allerjen uyarımına duyarlılığı hastalar arasında değiştiği için farklı allerjen konsantrasyonları kullanılmalıdır. BAT için genellikle heparinize, sitrat yada EDTA ile antikoagule tam kan kullanılır. Yeterli degranulasyonu sağlamak için, kan EDTA'lı tüpe konulduğunda kalsiyum ilavesi yapılmalıdır. Negatif kontrol tüpünde alınan 200 µL heparinize tam kan 37°C 'de 20 dakika boyunca, 200µL buffer (tampon) ile bekletilir.

Pozitif kontrol tüpünde ise 200 µL anti-IgE ile karşılaştırılır. Bazen anti-IgE antikoru yerine anti-FcεRI antikoru veya formyl methionine-leucine-phenylalanine (fMLF) kullanılır. fMLF alternatif degranulasyon / aktivasyon uyarımı olup, in vitro IgE aracılı yolla uyarımına cevap vermeyen (non-responder: cevapsız) bazofiller için kullanılır. Test tüpünde ise 200 µL volümdeki kan değişik (minimum, maksimum ve optimal) konsantrasyonda test edilecek allerjen ile karşılaştırılır. Allerjen en az iki spesifik IgE/FcεRI ile kompleks oluşturduğunda, bazal haldeki bazofil aktive olur. Bu aktivasyon sonrası CD203c ekspresyonu kısmen artsa da CD63 ekspresyonu anafilaktik degranülasyon ile logaritmik bir artış sonucu zirve yapar. Reaksiyon 1 mL buzla soğutulmuş tampon solüsyon (10 mmol/L EDTA içeren) phosphate buffer solution (PBS) ile 20 dakika sonra sonlandırılır. Daha sonra test tüpleri 5 dakika boyunca 4°C ve 200G' de çevrilir. Tüpler hazırlandıktan sonra, akım sitometri'de çalışmaya başlamadan önce bazofili seçmek ve aktivasyonunu ölçmek için; hücreler 20 µL monoklonal anti-human IgE, 10 µL monoklonal CD63, 10 µL CD203c antikoru ile 20 dakika süresince buz üstünde işaretlenir. Tüpler daha sonra akım sitometride çalışılmaya başlanır. Akım sitometride bazofillerin aktivasyon belirteçleri olarak CD63 ve CD203c

ekspresyonlarına bakılır. Birlikte kullanıldıklarında BAT'ın duyarlık ve özgünlüğünün arttığı bilinmektedir. CD63 (LAMP-3) ekspresyonu, hücrede degranülasyonu gösteren belirteçtir. Granüller, medyatörle dolu hücre içi vezikülerin üstündeki CD63, hücre membranı ile birleşerek degranüle olur ve CD63 eksprese olur. Bu hücre yüzeyi CD63 ekspresyonunda, ortalama floresan yoğunluk (MFI) sinyalinde ani ve bariz bir yükselişe, logaritmik kaymaya yol açar. CD203c ekspresyonu, normal bazal durumda hücre yüzeyinde belli oranda zaten eksprese edilmekle birlikte, aktivasyon sonrasında ise CD203c ekspresyonunu yansıtan MFI sinyalinde önemli derecede artışla kendini gösterir (Hausmann ve ark., 2009; Leysen ve ark., 2011; Masilamani ve ark., 2017).

## **2.6.Venom İmmünoterapi**

Allerjen immünoterapisi (AİT), allerjik hastalıkların tedavisinde uygulanan ve hastalık seyrini değiştirebilen tek tedavi yöntemidir. Allerjik rinit, allerjik astım ve venom allerjisinin tedavisinde etkinliği gösterilmiştir. AİT aynı zamanda klinik ve immünolojik tolerans mekanizmalarının araştırılmasına yönelik çalışmalar için de yararlı bir model oluşturmaktadır. AIT'de amaç periferik tolerans mekanizmalarını kullanarak allerjenlere karşı uzun süreli klinik toleransın sağlanmasıdır.

Venom immünoterapi uygulaması, venom kaynaklı allerjik hastalıklarda en etkili tedavi yöntemidir. VİT tedavisi uygulanmayan hastalarda reaksiyonların tekrar görülme riski %60 iken, tedavi edilen hastaların yaklaşık %85-95'inde tekrar arı soktuğunda herhangi bir reaksiyon gelişmemektedir.

Arı sokmasına karşı VİT ile tolerans gelişmesinin sağlandığı ortaya konulmakla birlikte tedavinin mekanizması kesin olarak anlaşılamamıştır. Ancak son yıllarda regülatör T hücrelerden IL-10 ve TGF-beta salınımının antijene karşı immün regülasyon oluşumunda önemli rol oynadığı bulunmuştur. VİT, arı sokmasından sonra sistemik reaksiyon gelişen ve tanısı DPT, sIgE testleri ile doğrulanan edilen kişilerde uygulanmalıdır (Allerjen İmmünoterapisi: Ulusal Rehber, 2016). Etkinliği, yaban arısı allerjisi olan hastalarda yaklaşık % 95 ve bal arılarına allerjisi olanlarda % 75-85' dir (Ruëff ve ark., 2001). Bazı durumlarda, korumayı sağlamak için VİT standart idame dozunu arttırmak gerekir. Arı sokması sonrası ciddi sistemik reaksiyon (anafilaksi) öyküsü olan hastalarda DPT'leri ve intradermal testlerin uygulanması esnasında sistemik reaksiyonlar görülebilmektedir. Bu nedenle bazı hastaların venom

duyarlılığının gösterilmesinde zorluklar yaşanmaktadır. Venom allerjisini tespit etmede özgüllük ve duyarlılığı yüksek girişimsel olmayan bir test daha fazla tercih edilecek tanı metodu olacaktır. BAT venom allerjisinin teşhisi için çok hassas ve spesifik bir yöntemdir. Yüksek özgüllüğü (%83-100) ve duyarlılığı (%85-100) antijen uyarımını takiben ortaya çıkan hücresel yanıtın gerçek zamanlı olarak gösterilmesinden kaynaklanmaktadır. BAT ile in-vivo yaşanan IgE aracılı erken tip aşırı duyarlılık reaksiyonu in-vitro tüp ortamına taşınmaktadır. Bu nedenle DPT ve sIgE ölçümüne göre daha kullanışlı ve yararlıdır. Bu özelliğiyle BAT hem antijen duyarlılığının tespitinde, hem de VİT etkinliğinin değerlendirilmesinde kullanılacak girişimsel olmayan bir yöntemdir (Hemmings ve ark., 2018). Günümüzde arı VİT etkinliği, VİT idame sürecinde hastayı doğal yollarla arı sokması ya da canlı arılar ile provokasyon yapılması ile kesin olarak anlaşılmaktadır. Fakat etik nedenler ve olası ciddi sistemik reaksiyonlar nedeniyle VİT etkinliğinin değerlendirilmesinde girişimsel olmayan yöntem arayışları içerisine girilmiştir. Bu yöntemlerden birisi de VİT etkinliğinin BAT ile değerlendirilmesidir. VİT'ye en az üç ile beş yıl devam edilmelidir. Çoğu hastada VİT beş yıl sonra güvenle kesilebilir (Allerjen İmmünoterapisi: Ulusal Rehber, 2016).

### **3.GEREÇ VE YÖNTEM**

Bu çalışma, TYL-2019-9267 numaralı proje olarak Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiş ve Erciyes Üniversitesi Etik Kurulundan 03.04.2019 tarih ve 2019/239 numaralı karar ile onay alınmıştır.

Çalışmaya Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi göğüs hastalıkları immünoloji allerji kliniğine başvuran arı venom duyarlılığı tespit edilip (öykü, DPT ve sIgE ölçümleri ile) allerji immünoloji kliniğince güncel kılavuz önerileri doğrultusunda VİT başlanmasına karar verilen 10 hasta dahil edilmiştir. Her hastaya çalışma hakkında bilgi verildikten sonra bilgilendirilmiş gönüllü onam formları imzalatılmıştır.

Hastaların kanları heparinli tüpe (BD Vacutainer, BD-Plymouth, PL6 7BP, UK), 3 cc kan örneği bulunacak şekilde alınmıştır. Kan alma işlemi VİT öncesi, VİT'nin 3. ve 6. ayında olmak üzere üç kez tekrarlanmıştır.

Hastalardan alınan venöz kan örnekleri pozitif kontrol (PK) (FMLP- N-Formyl-Met-Leu-P-, anti-IgE), negatif kontrol (NK) ve arı venom ekstrakt dilüsyonlarına (0.1 mg/ml, 1 mg/ml, 10mg/ml) maruz bırakılmıştır. Bazofil yüzeyindeki CD63 ve CD203c ekspresyon düzeyi akım sitometri cihazı ile değerlendirilmiştir. CD203c için MFI değerleri, CD63 için yüzde bazofil aktivasyon oranı kullanılmıştır. Çalışmada akım sitometrik değerlendirmeler Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı Akım Sitometri Laboratuvar'ında yürütülmüştür.

#### **3.1. Alet ve Ekipman**

- Beckmancoulter (BC) NAVIOS, 3 LAZER / 10 RENK akım Sitometre Cihazı, (BC, USA)
- Vorteks Cihazı (Dragon Labs .MX-S ve HEIDOLPH)
- Kalibre edilmiş standart pipetler (20 µl, 100 µl, 2 ml)
- 10-100µl otomatik pipet (Gilson, ABD)

- Pipetör 100-1000µl otomatik pipet (Gilson,ABD)
- Süre ölçer
- Buzdolabı (Profilo, Türkiye)
- Isıtıcı blok (DLAB,HB-120S)
- Navios sisteminde kaluza kullanılmaktadır.

### 3.1.1.Plastik Sarf Malzemeleri

- 10-100 µl Kalibre edilmiş standart pipet uçları (ISOLAB)
- 100-1000 µl Kalibre edilmiş standart pipet uçları (ISOLAB)
- Plastik akım sitometri test tüpleri 12x75 mm

### 3.1.2.Kitler ve Kimyasal Maddeler

Akım sitometrik analiz için yapılan çalışmada kullanılan kitler ve kimyasal maddeler;

1. Optilyse C Lysing Solution(BeckmanCoulter, USA)
2. Hücre yıkama işlemlerinde kullanılan
  - Isoflow (BC, 41116015)
  - FMLP... 10MG
  - PBS
  - ALK Vespula ve Apis immünoterapi solüsyonları
3. Akım sitometre cihazının günlük yıkama işlemlerinde kullanılan Clenz  
(BC,8448222)
4. Distile su
5. CD63 FITC, CD123 PE, HLA-DR ECD, CD203c PC7, (BeckmanCoulter, USA)
6. CD45 PC5 (BeckmanCoulter, USA)
7. IL-3(10µg)(BioLegend, USA)
8. Anti-IGE(0,5mg/mL-100µg) (BioLegend, USA)

### 3.2. Solüsyon ve Kimyasalların Hazırlanması

**Anti-IgE (0,5mg/mL-100µg)** (BioLegend, USA) :Solüsyon halinde geldi. Her çalışma ve her bir örnek başına 4 µl Anti-IGE + 496µl distile su ekleyerek yeni solüsyon oluşturuldu. Buradan pozitif kontrol tüpü olarak kullandığımız tüpe 150µl eklendi.

**FMLP** (Sigma 10MG): Solüsyon halinde geldi. Her çalışma ve her bir örnek başına 4µl FMLP+ 496µl distile su ekleyerek yeni solüsyon oluşturuldu. Buradan pozitif kontrol tüpü olarak kullandığımız tüpe 150µl eklendi.

**IL-3 (10µg)** (BioLegend, USA): Solüsyon halinde geldi. Her çalışma ve her bir örnek başına 1µl IL-3+ 4999µl PBS ekleyerek sulandırılarak yeni solüsyon oluşturuldu. Çalışma için kullanılan bütün tüplere bu solüsyondan 150'şer µl eklendi.

### 3.3. Akım sitometrinin okuma ve analiz için hazırlanması

- Cihaz ve Navios yazılım açılır. Cihaza yıkama tüpleri verilir ve cihaz ayar boncukları cihazdan geçirilir.
- Cihazda önceden hazırlanmış olan ve her kullanımda optimize edilen hücre okuma protokolü / paneli kullanılarak hücresel veriler elde edilir.
- Analiz; elde edilen hücresel verilerin ilgili program kullanılarak işlenmesi analiz edilmesi sonuçlandırılmasıdır.

### 3.4.Akım Sitometrik Analiz Uygulamaları

#### Akım sitometri analiz işlem basamakları özet iş akışı:

- Uygun anatikor gruplarından analiz paneli oluşturulması
- Akım sitometri öncesi hücrelerin antikor ile işaretleme için hazırlanması,
- İşaretleme işlemi sonrası akım sitometriden hücrelerin geçirilmesi (okuma işlemi)
- Akım sitometride okuma sonuçlarının her örnek için analizi
- Hasta ve kontrol datalarının gruplandırılarak karşılaştırılması
- Datalar arasında istatistiksel bağlantının araştırılması,
- Akım sitometri verileri ile diğer laboratuvar sonuçlarının karşılaştırılması ve anlamlı bağlantıların araştırılması.

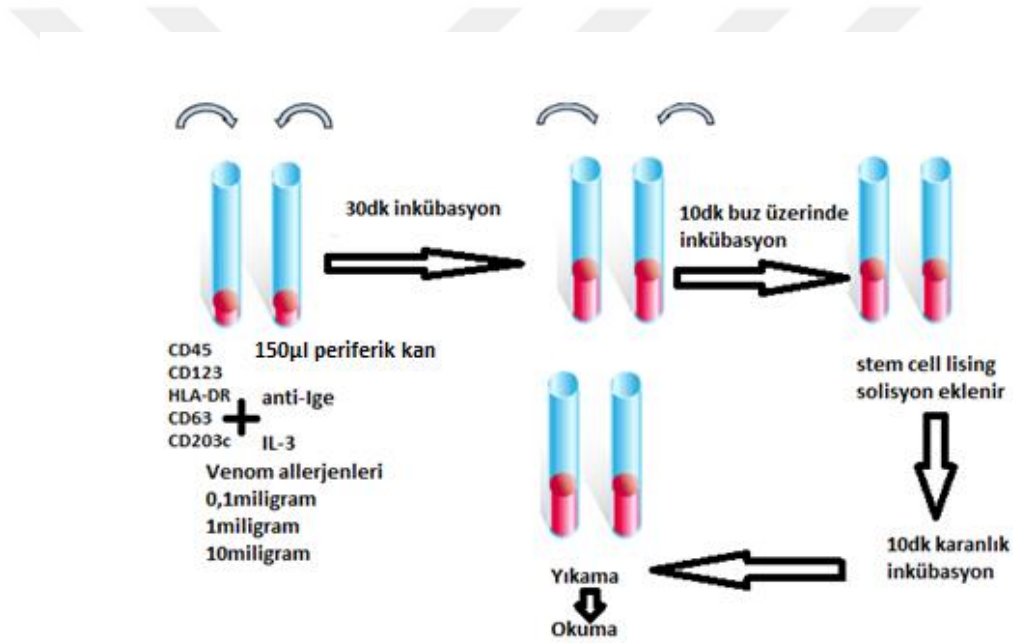
### 3.5. Akım Sitometri Örnek Hazırlama İşlem Basamakları

1. Her hastadan alınan 150 µL kan örneği üzerine 150µL PBS+150µL IL-3 her bir flow tüpüne eklendi.
2. Her bir örnek için 6 flow tüpü kullanıldı ve aşağıdaki gibi isimlendirildi.
  - a. **Tüp negatif kontrol tüpü;** CD63 FITC, CD123 PE, HLA-DR ECD, CD203c PC7, CD45 PC5, markerları 5'er µL, ek olarak aynı tüpe 150 µL PBS+IL3 eklendi.
  - b. **Tüp pozitif kontrol FMLP tüpü;** CD63 FITC, CD123 PE, HLA-DR ECD, CD203c PC7, CD45 PC5 5'er µL, ek olarak aynı tüpe 150 µL PBS+IL3+FMLP eklendi.
  - c. **Tüp pozitif kontrol Anti-IGE tüpü;** CD63 FITC, CD123 PE, HLA-DR ECD, CD203c PC7, CD45 PC5 5'er µL, ek olarak aynı tüpe 150 µL PBS+IL3+Anti-IGE eklendi.
  - d. **Tüp venom Allerjen tüpü (0.1mg/ml) ;** CD63 FITC, CD123 PE, HLA-DR ECD, CD203c PC7, CD45 PC5 5'er µL, ek olarak aynı tüpe 150 µL PBS+IL3+ 150µL arı venomu(apis-vespula) eklendi.
  - e. **Tüp İlaç Allerjen tüpü (1mg/ml) ;** CD63 FITC, CD123 PE, HLA-DR ECD, CD203c PC7, CD45 PC5 5'er µL, ek olarak aynı tüpe 150 µL PBS+IL3+ 150µL arı venomu(apis-vespula) eklendi.
  - f. **Tüp İlaç Allerjen tüpü (10mg/ml) ;** CD63 FITC, CD123 PE, HLA-DR ECD, CD203c PC7, CD45 PC5 5'er µL, ek olarak aynı tüpe 150 µL PBS+IL3+ 150µL arı venomu (apis-vespula) eklendi.

Her bir örnek sayısı kadar flow tüpünde hazırlandı. Solüsyonun homojen karışabilmesi için hafif vorteksleme işlemi yapıldı ve 30 dk ısıtıcı blokta inkübasyon işlemi uygulandı.

3. İnkübasyonun hemen ardında bütün tüpler 5dk buza gömüldü.
4. Her bir örnekten alınan 150 µL kan örneği ve bütün karışımındaki eritrositleri uzaklaştırmak için lizis solüsyonu hazırlandı ( her örnek başına 0,5mL stemcell+4,5mL distile su) lising solüsyonundan 2 mL eklendi. Hafif vorteksleme işlemi yapıldı ve elde edilen karışım karanlıkta 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
5. Süre sonunda tüm örnekler 2 mL hücre yıkama solüsyonu eklenerek oda sıcaklığında 1000 rpm' de 5 dakika santrifüj edildi.
6. Üst faz uzaklaştırıldı. Aynı işlem üç kez tekrarlandı.
7. Son olarak flow tüpünün üzerine 0,5mL okuma solüsyonu eklendi.

8. Daha sonra hücreler bekletilmeden doğrudan akım sitometrede analiz yapıldı.
9. Analiz, Beckman CoulterNavios ve FC500 model akım sitometre cihazı ve Kaluza yazılımı programı kullanılarak yapıldı.
10. Kullanılan 6 tüpteki örnekler analiz edilirken uygun dedektör ayarları yapıldı ve FL1' de kompanzasyon sıfır olarak seçildi ve okuma bir milyon hücre içerisinde 500 adet bazofil hücresinin sayımı yapıldı.
11. Akım sitometrik analiz sonrasında bazofil hücreleri seçilerek sayısı hesaplandı.



**Şekil 3.1.** Bazofil aktivasyon testi örnek hazırlama işlem basamakları

### 3.6. Bazofil Hücrelerinin Akım Sitometri ile Tanımlanması

Örneklerde bazofil hücresinin, hücre yüzey ve hücre içi markırların ekspresyon düzeyi ve hücre sayıları hesaplandı.

Çalışmada, CD63 FITC, CD123 PE, HLA-DR ECD, CD203c PC7, CD45 PC5, IL-3, Anti-IGE markırları kullanıldı

### **3.6.1.Arı Venom Allerjisi Olan Hasta Örneklerinde Bazofil Hücre Sayısının Akım Sitometri ile Hesaplanması**

Bu amaçla her bir kan örneğinden bir milyon hücre akım sitometri cihazında saydırıldı.

Bu sayıdaki hücre içerisinde mevcut olan bazofil hücre oranı kapılama yapılarak sayı olarak hesaplandı.

**HLA-DR- hücre sayısının hesaplanması;** Hasta örneklerinde kapılama yapıp toplam hücre sayısından hücre değerleri verildi. CD45 kapısında lökosit hücreleri seçilerek (dim) kapılandı. Daha sonra HLA-DR /SS ekranındaki HLA-DR negatif hücre alanı kapılanıp hücre değeri bulunup toplam hücre sayısına göre değer verildi.

**CD123+ hücre sayısının hesaplanması;** Hasta örneklerinde kapılama yapıp toplam hücre sayısından CD123 pozitif hücre değerleri verildi. CD45 dim kapılanır. Daha sonra HLA-DR /SS ekranındaki HLA-DR negatif hücre alanı kapılanıp CD123 /SS grafiğinde, kapılanan HLA-DR negatif kapısı tanımlandı, CD123 pozitif hücrelerin olduğu alan tekrar kapılanıp hücre değeri bulundu ve toplam hücre sayısına göre değer verildi.

**HLA-DR- , CD123+,CD63 + hücre değerleri hesaplamak için;** CD45 dim kapılandı. Daha sonra HLA-DR/SS ekranından HLA-DR- hücre alanı kapılanıp CD123/SS ekranında HLA-DR- hücre kapısı tanımlandı ve aynı ekranda CD123+ hücre alanı kapılanıp, CD123+olarak kapılanan kapı CD63/SS ekranında tanımlanıp CD63+ pozitif olan bölümdeki hücre sayı hesaplandı.

**HLA-DR- , CD123+,CD203c + hücre değerleri hesaplamak için;** CD45 dim kapılandı. Daha sonra HLA-DR/SS ekranından HLA-DR- hücre alanı kapılanıp CD123/SS ekranında HLA-DR- hücre kapısı tanımlandı ve aynı ekranda CD123+ hücre alanı kapılanıp, CD123+olarak kapılanan kapı CD203c/SS ekranında tanımlandı ve CD203c+ pozitif olan bölümdeki hücre sayı hesaplandı.

### **3.7.İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel analiz IBM SPSS Statistics 22.00 ile yapıldı. Venom immünoterapi tedavisi başlanan 10 hastanın immünoterapi öncesi ve immünoterapinin 3. ve 6. aylarındaki bazofil aktivasyonları; üç farklı konsantrasyonda CD63 ve CD203c değerlerindeki yüzde ve MFI değışimleri ölçülerek değerlendirildi.

Her bir konsantrasyondaki 0. gün. 3. ve 6. aylardaki değerleri sıralı olarak karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma için veri setinde 10 denek bulunması nedeniyle non-parametrik testlerden olan Friedman Test kullanılmıştır.



## 4.BULGULAR

### 4.1.Bazofil Aktivasyon Testinin Optimizasyonu

Bu çalışma yöntem kısmında belirtilen protokole göre çalışıldı. Kan örnekleri alındığı andan itibaren fazla beklemediği için hücrelerin canlılığı korundu. Testin ilk denemesinde 50 µl kan ve kan oranıyla aynı ölçüde PBS, IL3, FMLP, Anti IgE ve üç ayrı dilüsyonda venom ekstraktı kullanıldı. Fakat akım sitometrik ölçümde kan oranı az olduğu için istenilen bazofil sayısına ulaşılamadı. Daha sonra istenilen sayıya ulaşmak için kan oranı ile diğer kullanılan kimyasal ve solüsyonların miktarı 50'nin katları şeklinde artırılarak optimum miktar saptandı. Bu miktar 150 µl olarak belirlendi.

### 4.2.Çalışmada Hasta Grubu

Bu çalışmada venom immünoterapi tedavisi başlanan 10 hastanın immünoterapi öncesi (0. gün) ve immünoterapinin 3. ve 6. aylarındaki bazofil aktivasyonlarındaki değişim negatif kontrol (NK), pozitif kontrol (PK) (IgE, FMLP) ve üç ayrı dilüsyondaki venom ekstraktındaki (0.1 mg/ml, 1 mg/ml,10 mg/ml) CD63 yüzde ve CD203c MFI değerleri kullanılarak ölçüldü. Çalışmaya katılan 10 hastanın yedisi kadın üçü erkekti. Hastaların yaşları 22-75 arasında idi. Hasta öyküleri değerlendirildiğinde anafilaksi şiddetleri bir hasta grade I, beş hasta grade II, bir hasta grade III, üç hasta grade IV'dü. Hastaların dördünün bal arısı, altısının ise yaban arısı allerjisi vardı. Ayrıca DPT çapları ise yaban arısı allerjisi olan hastalarda 3x3-10x5 iken bal arısı allerjisi olan hastalarda 4x4-10x5'di.

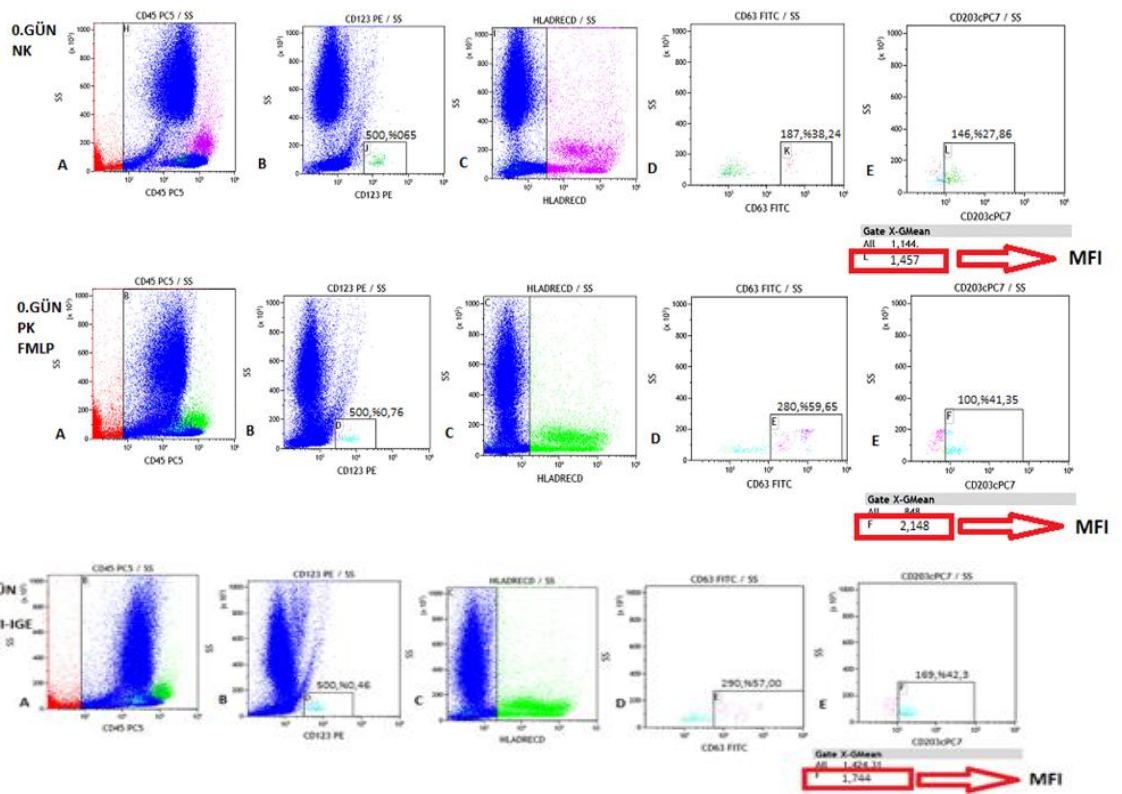
Bu hastaların demografik özellikleri tablo 4.1'de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Hastaların Demografik Özellikleri

Hasta No	Cinsiyet	Yaş	Duyarlı Venom	Öykü (Müller Grade )	Deri Prik Çap
Hasta 1	K	25	Yaban Arısı	I	10X5
Hasta 2	E	58	Bal Arısı	IV	6X5
Hasta 3	K	42	Bal Arısı	II	7X7
Hasta 4	K	22	Yaban Arısı	II	4X4
Hasta 5	E	55	Bal Arısı	IV	10X5
Hasta 6	K	32	Yaban Arısı	III	3X3
Hasta 7	K	24	Yaban Arısı	II	5X4
Hasta 8	K	55	Yaban Arısı	IV	4X3
Hasta 9	K	75	Yaban Arısı	II	7X7
Hasta 10	E	47	Bal Arısı	II	4X3

### 4.3.Akım Sitometri Analiz Sonuçları

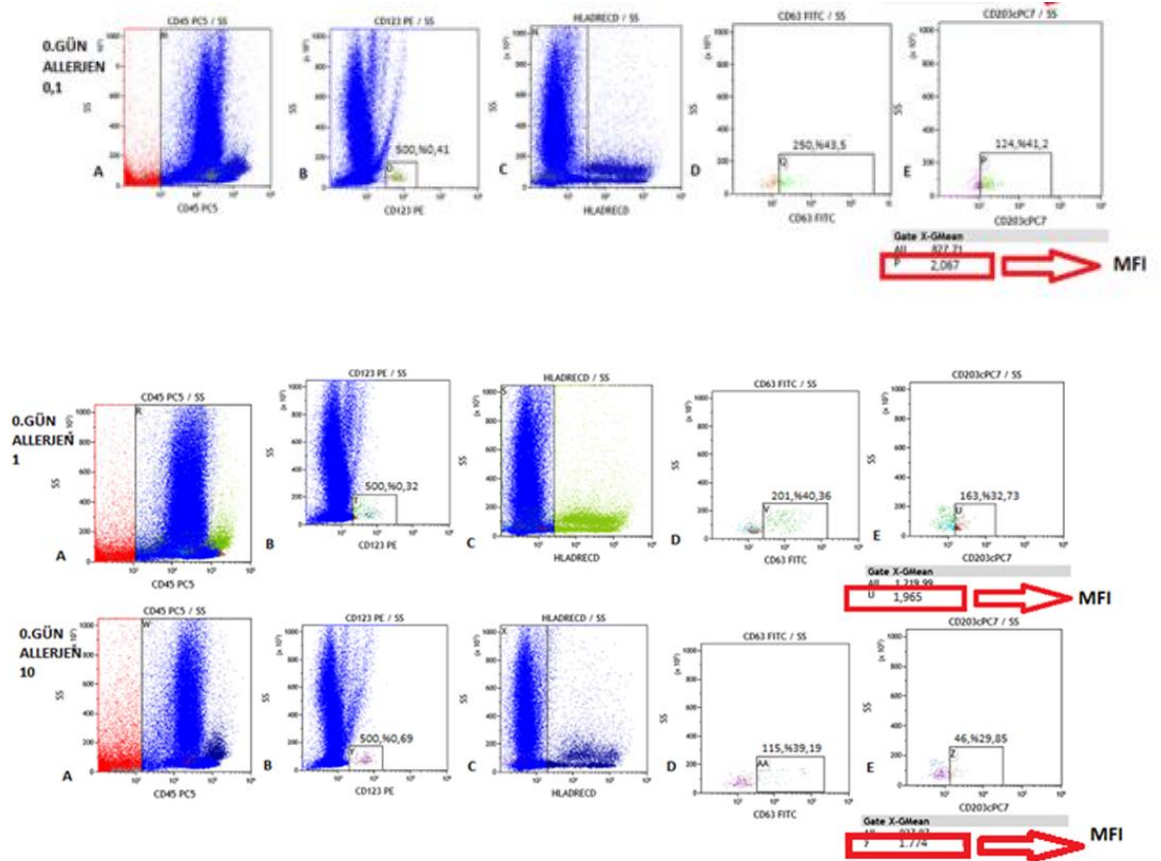
Çalışmaya katılan 10 hastanın örneklerinin her birinde akım sitometri ile bir milyon hücre sayımı yapıldı. Kapılamalar yapılarak CD45<sup>+</sup>, CD123<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>, CD63<sup>+</sup> CD203c<sup>+</sup> hücre sayıları hesaplandı. Hasta grubunda H1 nolu hastanın akım sitometrik kapılama ile immünoterapi öncesi 0. gün, immünoterapi sonrası 3. ve 6. aylardaki negatif kontrol (NK), pozitif kontrol (PK) (IgE, FMLP) ve üç ayrı dilüsyondaki venom ekstraktındaki (0.1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml) CD63 yüzde ve CD203c MFI değerleri ölçüldü. Ölçüm sonuçları şekil 4.1-Şekil 4.6.'da gösterilmiştir.



**Şekil 4.1.** Bazofil aktivasyon testinde 0. günde negatif kontrol(NK), pozitif kontrol(PK) (FMLP-anti-IgE) ile CD63 ve CD203c MFI değerlerinin ve yüzde değerlerinin akım sitometri ile belirlenmesi.

0.günde negatif kontrol (NK) ve pozitif kontrol (PK) (FMLP,anti-IgE) tüpündeki bazofil hücrelerinin akım sitometri ile analizi ve kapılama stratejisi gösterildi.

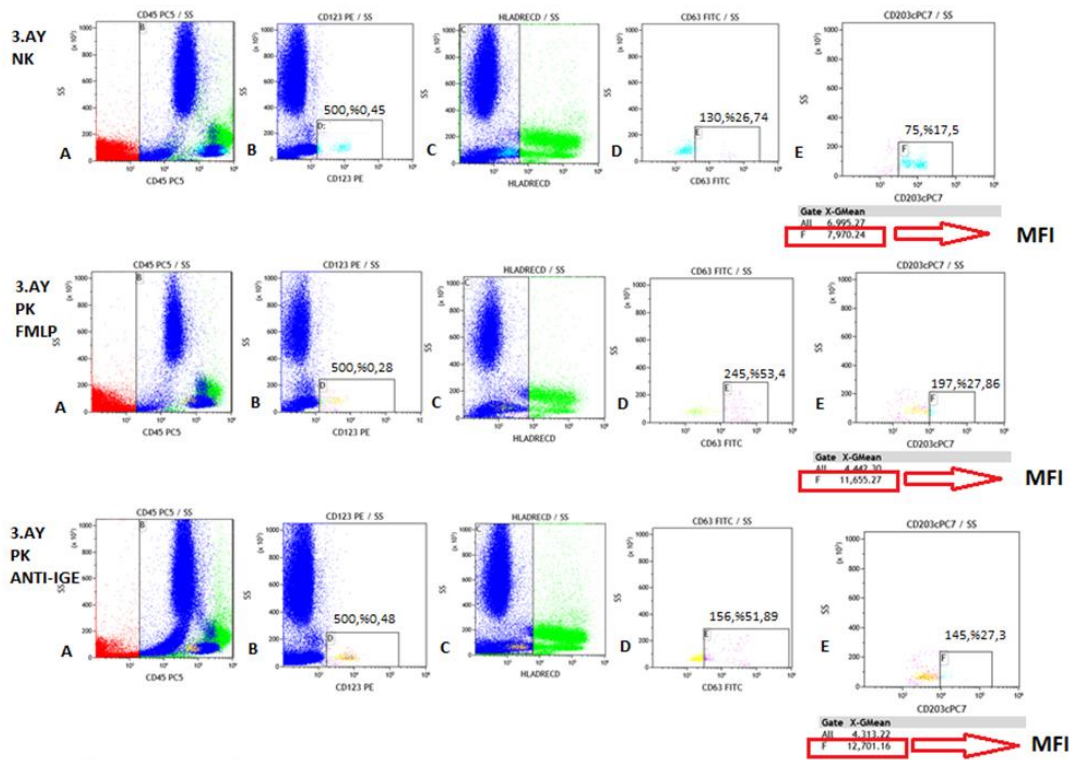
A: CD45 Dim bölgesi, B: CD123<sup>+</sup> hücre bölgesi C:HLA-DR<sup>-</sup> hücre bölgesi, D: CD123<sup>+</sup>/ CD63<sup>+</sup> bazofil hücre sayısı, E: CD123<sup>+</sup>/ CD203c<sup>+</sup> bazofil hücre sayısı.



**Şekil 4.2.** Bazofil aktivasyon testinde 0. gün arı venom titreleri ile CD63 ve CD203c MFI değerlerinin ve yüzde değerlerinin akım sitometri ile belirlenmesi.

0.gün arı venom tüpündeki (0.1mg/ml, 1mg/ml, 10mg/ml) bazofil hücrelerinin akım sitometri ile analizi ve kapılama stratejisi gösterildi.

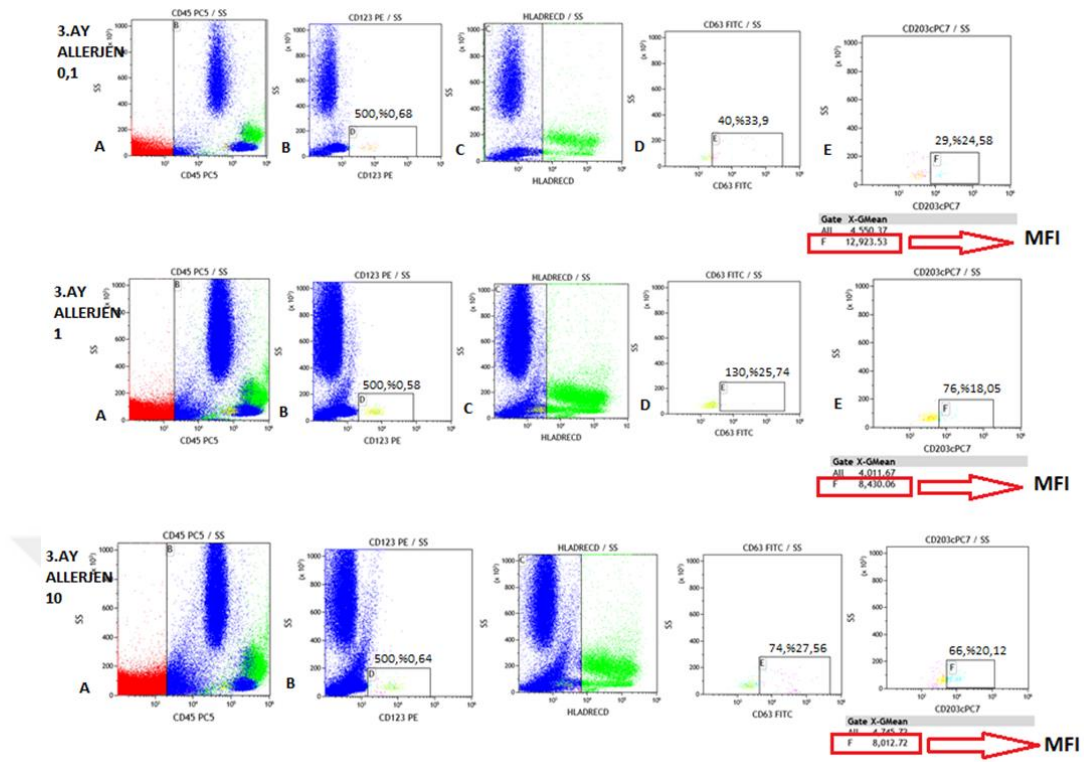
A: CD45 Dim bölgesi, B: CD123<sup>+</sup> hücre bölgesi C:HLA-DR<sup>-</sup> hücre bölgesi, D: CD123<sup>+</sup>/ CD63<sup>+</sup> bazofil hücre sayısı, E: CD123<sup>+</sup>/ CD203c<sup>+</sup> bazofil hücre sayısı.



**Şekil 4.3.** Bazofil aktivasyon testinde 3. ay negatif kontrol (NK), pozitif kontrol (PK) (FMLP,anti-IgE) CD63 ve CD203c MFI değerlerinin ve yüzde değerlerinin akım sitometri ile belirlenmesi.

3.ay negatif kontrol (NK) ve pozitif kontrol (PK) (FMLP,anti-IgE) tüpündeki bazofil hücrelerinin akım sitometri ile analizi ve kapılama stratejisi gösterildi.

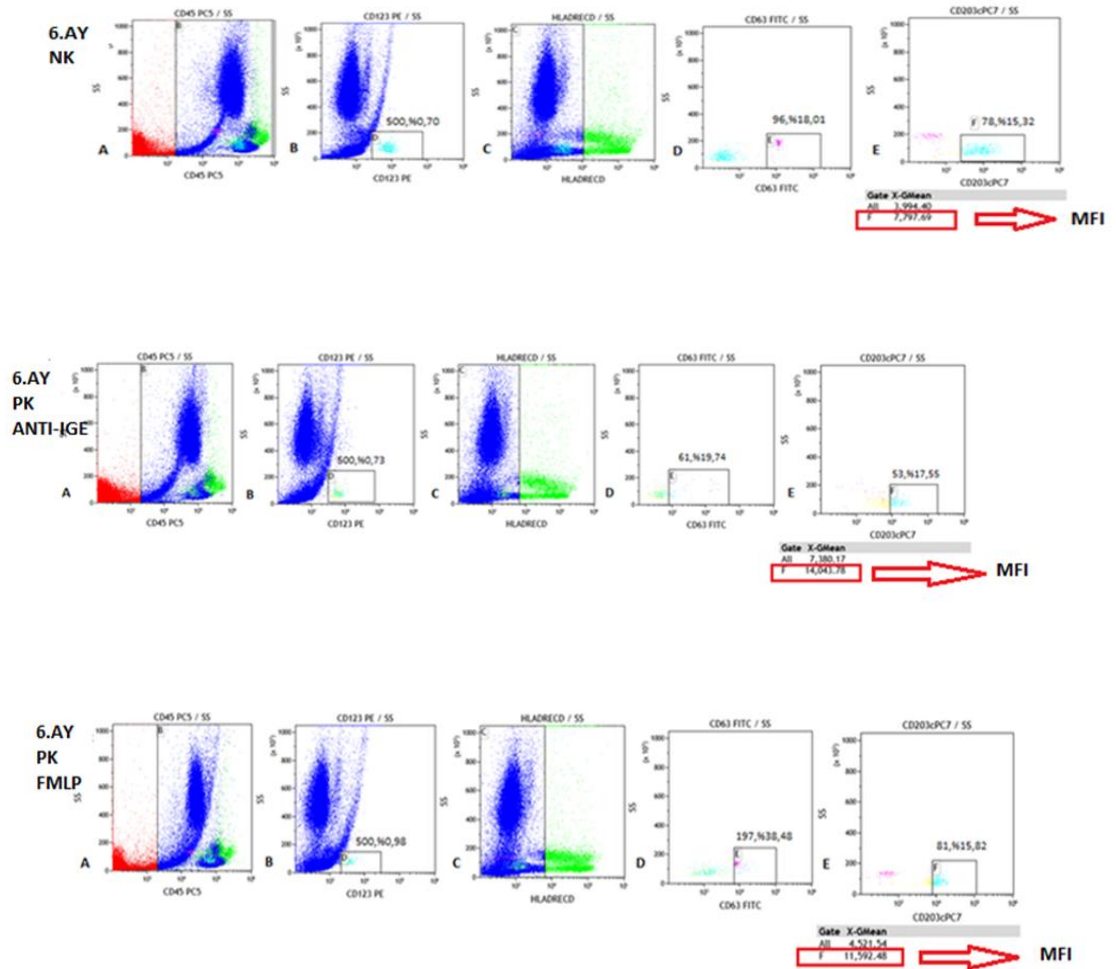
A: CD45 Dim bölgesi, B: CD123<sup>+</sup> hücre bölgesi C:HLA-DR<sup>-</sup> hücre bölgesi, D: CD123<sup>+</sup>/ CD63<sup>+</sup> bazofil hücre sayısı, E: CD123<sup>+</sup>/ CD203c<sup>+</sup> bazofil hücre sayısı.



**Şekil 4.4.** Bazofil aktivasyon testinde 3. ay arı venom titreleri ile CD63 ve CD203c MFI değerlerinin ve yüzde değerlerinin akım sitometri ile belirlenmesi.

3.ay arı venom tüpündeki (0.1mg/ml, 1mg/ml, 10mg/ml) bazofil hücrelerinin akım sitometri ile analizi ve kapılama stratejisi gösterildi.

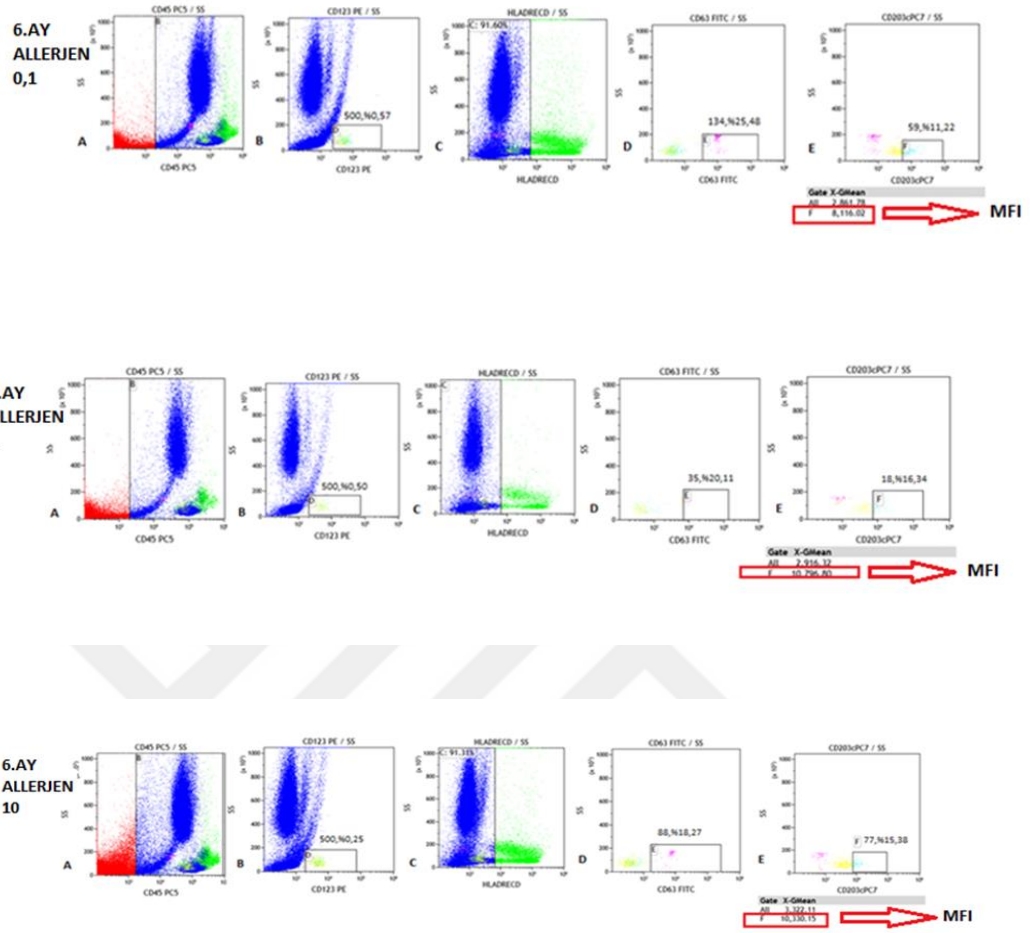
A: CD45 Dim bölgesi, B: CD123<sup>+</sup> hücre bölgesi C:HLA-DR<sup>-</sup> hücre bölgesi, D: CD123<sup>+</sup>/ CD63<sup>+</sup> bazofil hücre sayısı, E: CD123<sup>+</sup>/ CD203c<sup>+</sup> bazofil hücre sayısı.



**Şekil 4.5.** Bazofil aktivasyon testinde 6. ay negatif kontrol (NK), pozitif kontrol (PK) (FMLP,anti-IgE) CD63 ve CD203c MFI değerlerinin ve yüzde değerlerinin akım sitometri ile belirlenmesi.

6. ay negatif kontrol (NK) ve pozitif kontrol (PK) (FMLP,anti-IgE) tüpündeki bazofil hücrelerinin akım sitometri ile analizi ve kapılama stratejisi gösterildi.

A: CD45 Dim bölgesi, B: CD123<sup>+</sup> hücre bölgesi C:HLA-DR<sup>+</sup> hücre bölgesi, D: CD123<sup>+</sup>/ CD63<sup>+</sup> bazofil hücre sayısı, E: CD123<sup>+</sup>/ CD203c<sup>+</sup> bazofil hücre sayısı.



**Şekil 4.6.** Bazofil aktivasyon testinde 6. ay arı venom titreleri ile CD63 ve CD203c MFI değerlerinin ve yüzdelerinin akım sitometri ile belirlenmesi.

6.ay arı venom tüpündeki (0.1mg/ml, 1mg/ml, 10mg/ml) bazofil hücrelerinin akım sitometri ile analizi ve kapılama stratejisi gösterildi.

A: CD45 Dim bölgesi, B: CD123<sup>+</sup> hücre bölgesi C:HLA-DR<sup>-</sup> hücre bölgesi, D: CD123<sup>+</sup>/ CD63<sup>+</sup> bazofil hücre sayısı, E: CD123<sup>+</sup>/ CD203c<sup>+</sup> bazofil hücre sayısı.

Akım sitometrideki ölçüm sonuçları SPSS programına yüklenerek Friedman testi yapıldı. Fridman test sonucuna göre negatif kontrol (NK), pozitif kontrol (PK) (anti-Ige, FMLP), venom konsatrasyonu (K0.1, K1, K10), CD63 yüzde ve CD203c MFI değerlerindeki değişim istatistiksel olarak tablo 4.2’de gösterilmiştir.

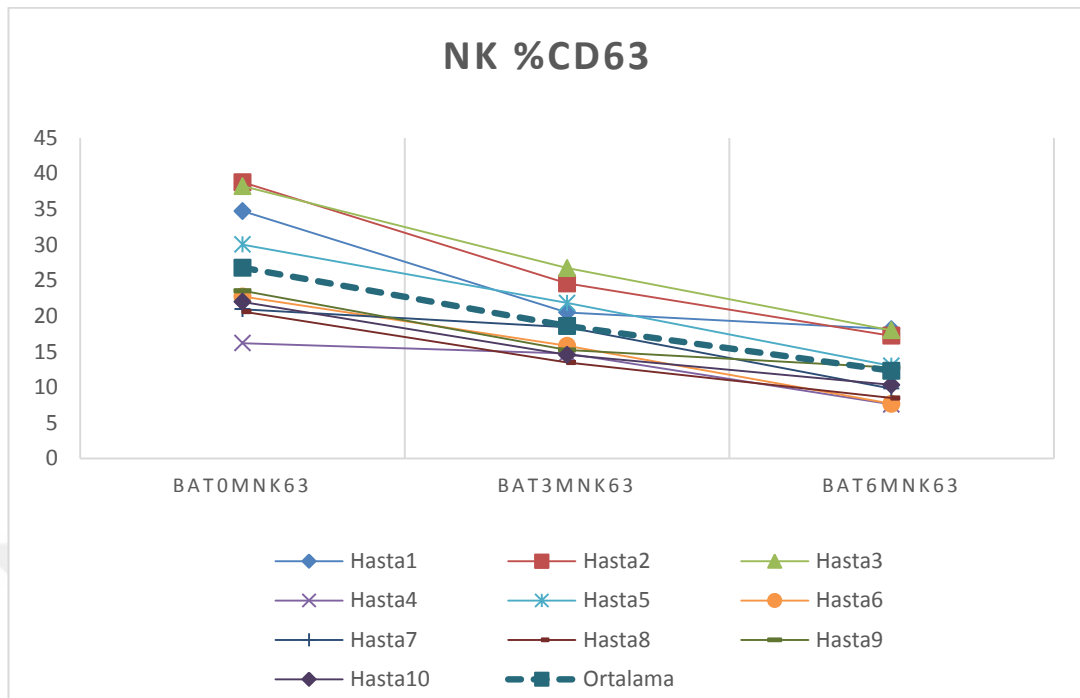
**Tablo 4.2.** Fridman test sonuçlarının istatistiksel verileri.

	$\chi^2=$	n=	p=
Negatif Kontrol (NK) CD63 %	20.000	10	.0001
Negatif Kontrol (NK) CD203c MFI	1.400	10	.497
Anti- Ige CD63 %	20.000	10	.0001
Anti- Ige CD203c MFI	1.400	10	.497
FMLP CD63 %	20.000	10	.0001
FMLP CD203c MFI	1.800	10	.407
K 0.1 CD63 %	20.000	10	.0001
K 0.1 CD203c MFI	3.800	10	.150
K 1 CD63 %	18.200	10	.0001
K 1 CD203c MFI	.600	10	.741
K 10 CD63 %	20.000	10	.0001
K 10 CD203c MFI	3.231	10	.199

\*p<0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir.

**Tablo 4.3.** Bazofil aktivasyon testi sonucu negatif kontrol (NK) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde değişimleri.

Hasta No	0.Gün CD63 %	3 ay CD63 %	6. ay CD63 %
Hasta1	34.74	20.51	18.15
Hasta2	38.78	24.58	17.23
Hasta3	38.24	26.74	18.01
Hasta4	16.21	14.76	7.59
Hasta5	30.05	21.84	13.01
Hasta6	22.75	15.81	7.69
Hasta7	20.97	18.45	9.82
Hasta8	20.62	13.48	8.5
Hasta9	23.55	15.24	12.77
Hasta10	21.99	14.56	10.33
Ortalama	26.79	18.597	12.31

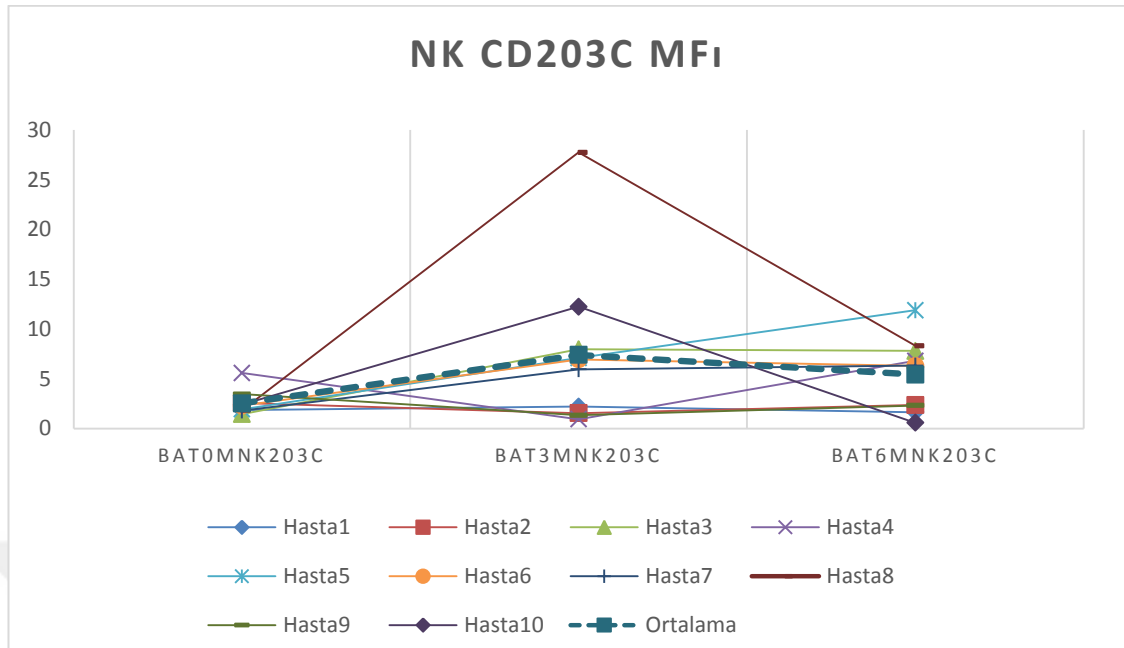


**Şekil 4.7.** Negatif kontrol (NK) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde dağılım grafiği.

Friedman testi sonuçlarına göre 0. gün, 3. ay ve 6. ay sonuçları arasında NK yüzde CD63 değerlerinde anlamlı bir fark bulunmuştur  $X^2 (sd=2, n=10) = 20.000, p=.0001$

**Tablo 4.4.** Bazofil aktivasyon testi sonucu negatif kontrol (NK) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişimleri

Hasta No	0.gün CD203c MFI	3. ay CD203c MFI	6. ay CD203c MFI
Hasta1	1.86	2.21	1.64
Hasta2	2.56	1.55	2.37
Hasta3	1.46	7.97	7.8
Hasta4	5.59	0.94	6.81
Hasta5	1.94	7.1	11.89
Hasta6	2.31	6.96	6.3
Hasta7	1.81	5.96	6.32
Hasta8	1.84	27.75	8.32
Hasta9	3.46	1.34	2.32
Hasta10	2.42	12.24	0.58
Ortalama	2.525	7.402	5.435

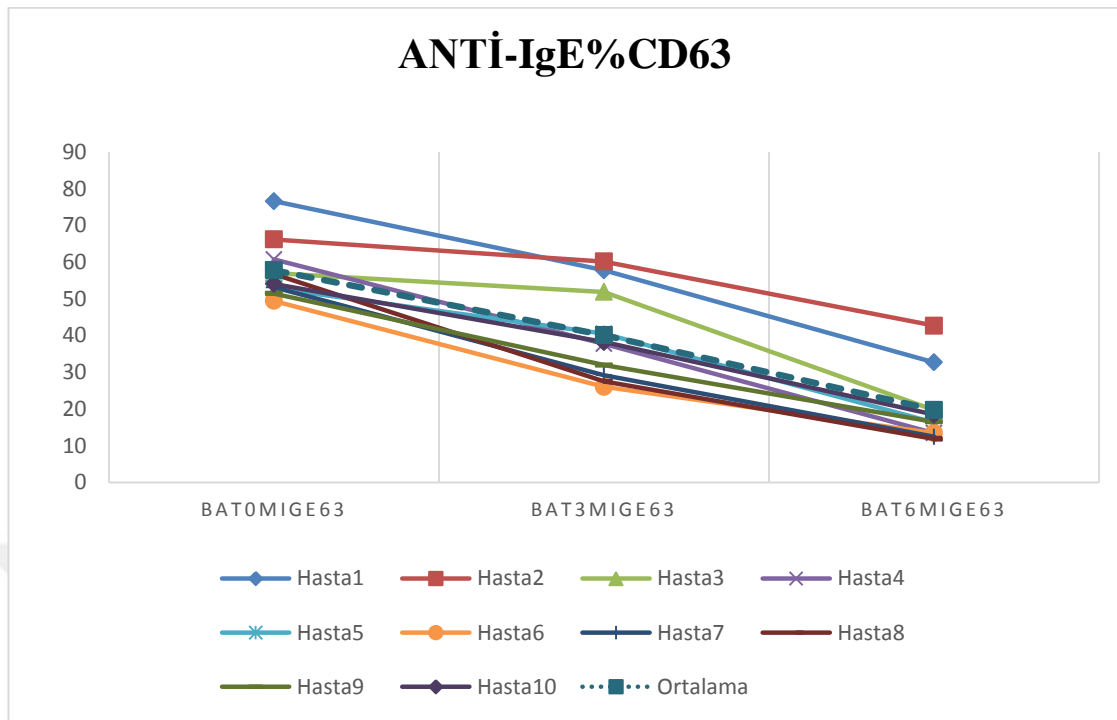


**Şekil 4.8.** Negatif kontrol (NK) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişim grafiği.

Friedman testi sonuçlarına göre 0. gün, 3. ay ve 6. ay sonuçları arasında NK CD203c MFI değerlerinin değişimlerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır.  $X^2$  (sd=2, n=10) = 1.400, p=.497.

**Tablo 4.5.** Bazofil aktivasyon testi sonucu anti-IgE ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde değişimleri.

Hasta No	0.Gün CD63 %	3. Ay CD63 %	6. Ay CD63 %
Hasta1	76.6	57.8	32.72
Hasta2	66.2	60.2	42.72
Hasta3	57	51.89	19.74
Hasta4	60.74	37.76	13.44
Hasta5	52.89	40.53	16.3
Hasta6	49.44	26.06	13.45
Hasta7	53.16	29.23	12.45
Hasta8	56.76	27.54	11.85
Hasta9	51.46	31.98	16.49
Hasta10	54.1	38.24	18.45
Ortalama	57.835	40.123	19.761

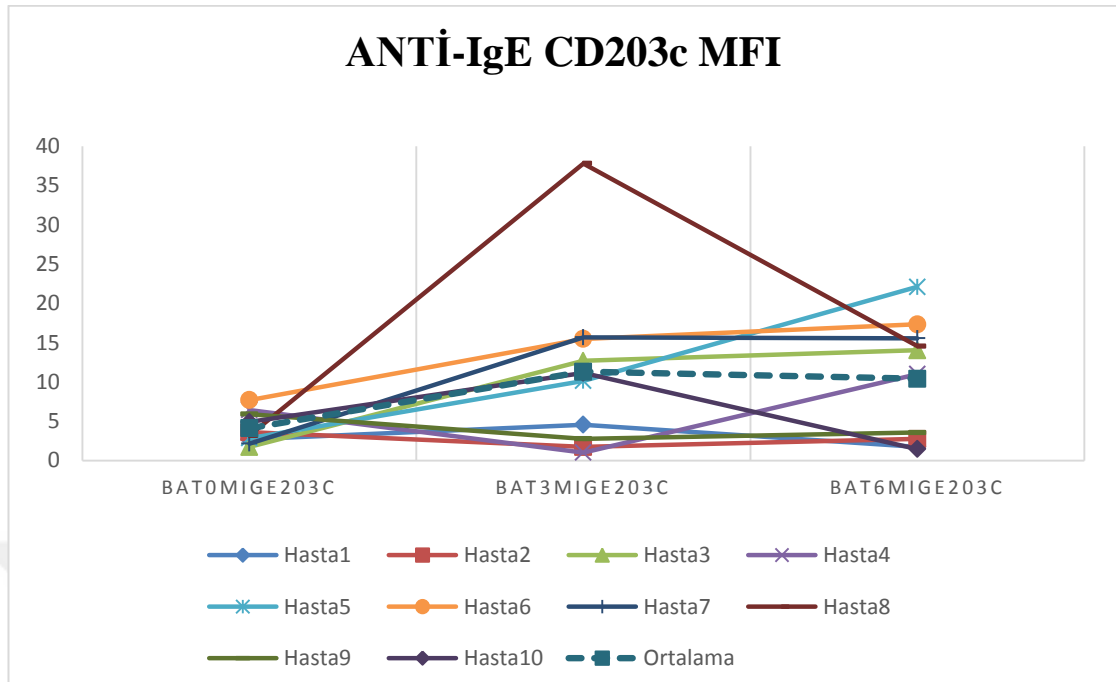


**Şekil 4.9.** Anti-IgE ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. Ay CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde dağılım grafiği.

Friedman testi sonuçlarına göre 0. gün, 3. ay ve 6. ay sonuçları arasında IgE yüzde CD63 değerlerinde anlamlı bir fark bulunmuştur.  $X^2$  (sd=2, n=10 = 20.000, p=.0001).

**Tablo 4.6.** Bazofil aktivasyon testi sonucu anti-IgE ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişimleri.

Hasta No	0.Gün CD203c MFI	3. Ay CD203c MFI	6. Ay CD203c MFI
Hasta1	2.71	4.56	1.75
Hasta2	3.61	1.74	2.75
Hasta3	1.74	12.7	14.04
Hasta4	6.44	1.02	11.01
Hasta5	2.85	10.14	22.09
Hasta6	7.7	15.49	17.34
Hasta7	2.17	15.69	15.56
Hasta8	3.21	37.8	14.56
Hasta9	5.91	2.77	3.56
Hasta10	4.91	11.16	1.48
Ortalama	4.125	11.307	10.414

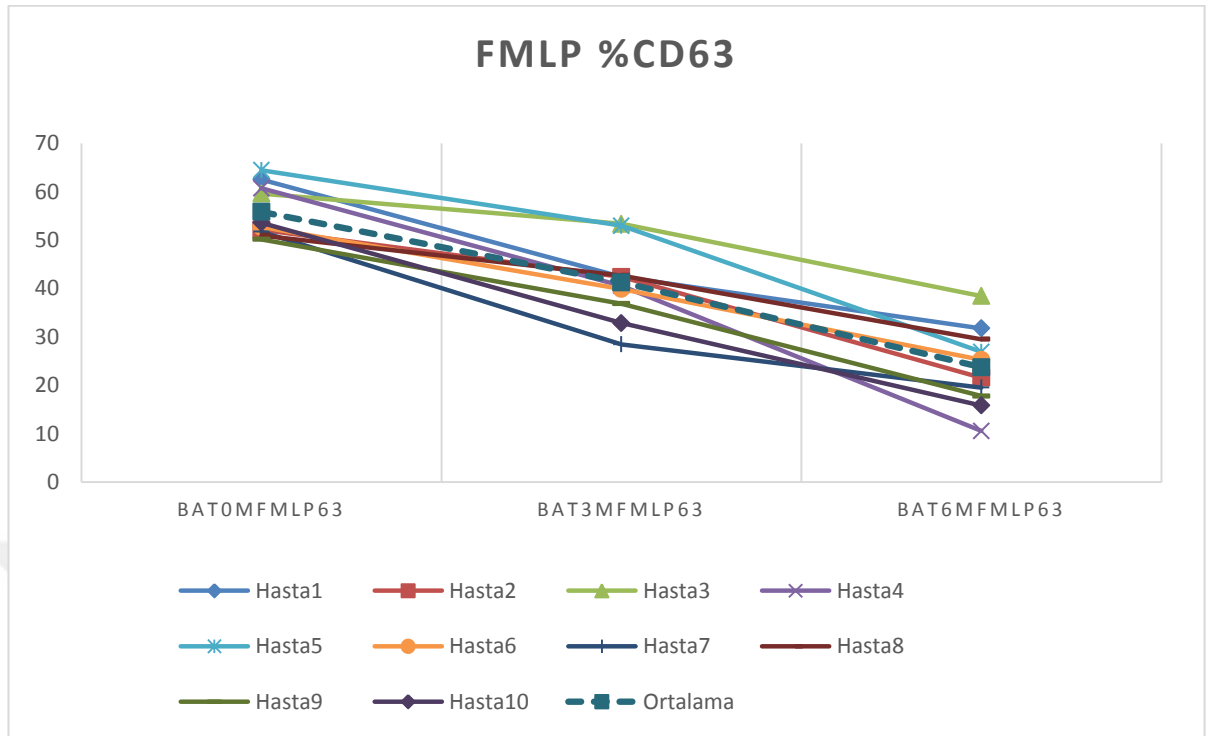


**Şekil 4.10.** Anti-IgE ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişim grafiği.

Friedman testi sonuçlarına göre 0. gün, 3. ay ve 6. ay sonuçları arasında IgE ile uyarım sonucu CD203c MFI değerlerinin değişimlerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır.  $X^2$  (sd=2, n=10) = 1.400, p=.497.

**Tablo 4.7.** Bazofil aktivasyon testi sonucu FMLP ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde değişimleri.

Hasta No	0.Gün FMLP CD63 %	3.Ay FMLP CD63 %	6.Ay FMLP CD63 %
Hasta1	62.55	42.4	31.8
Hasta2	52.15	42.4	21.6
Hasta3	59.65	53.4	38.48
Hasta4	60.74	40.6	10.58
Hasta5	64.48	52.98	26.91
Hasta6	52.73	39.93	25.27
Hasta7	51.76	28.47	19.54
Hasta8	50.98	42.72	29.54
Hasta9	50.17	36.89	17.79
Hasta10	53.61	32.87	15.84
Ortalama	55.882	41.266	23.735

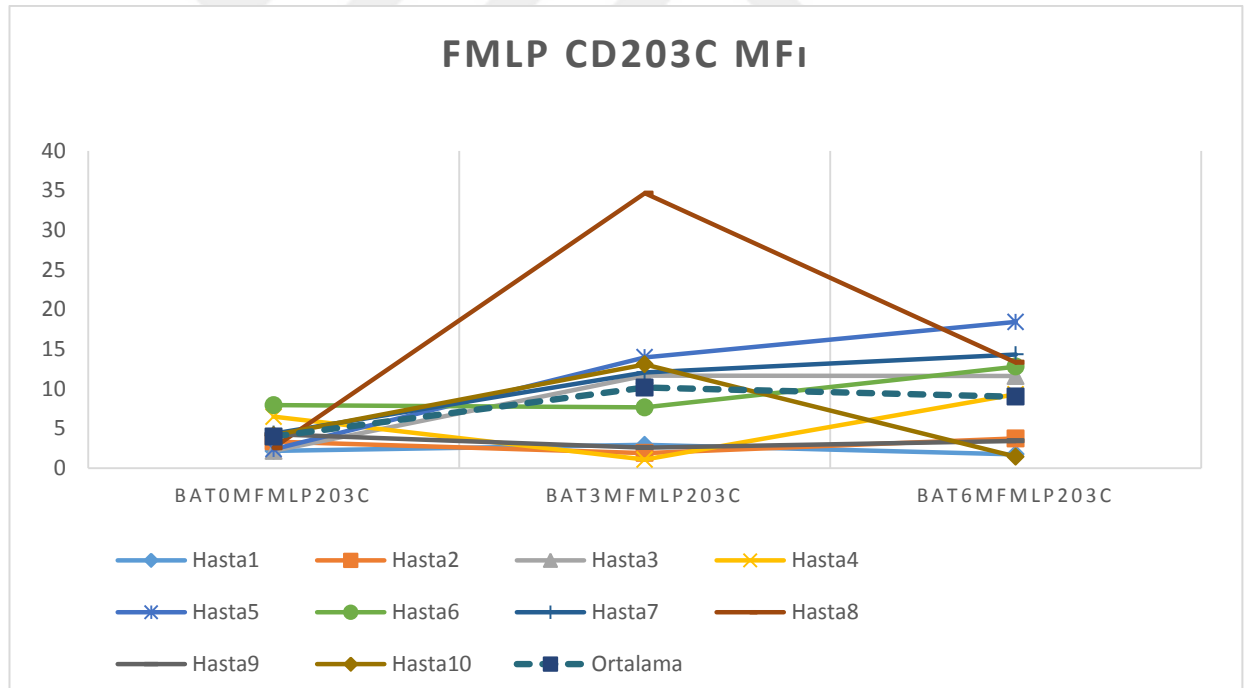


**Şekil 4.11.** FMLP ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde dağılım grafiği.

Friedman testi sonuçlarına göre 0. gün, 3. ay ve 6. ay sonuçları arasında FMLP yüzde CD63 değerlerinde anlamlı bir fark bulunmuştur.  $X^2 (sd=2, n=10) = 20.000, p=.0001$ .

**Tablo 4.7.** Bazofil aktivasyon testi sonucu FMLP ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişimleri.

Hasta No	0.Gün FMLP CD203c MFI	3. Ay FMLP CD203c MFI	6. Ay FMLP CD203c MFI
Hasta1	2.15	2.92	1.73
Hasta2	3.35	1.89	3.73
Hasta3	2.15	11.65	11.59
Hasta4	6.48	1.06	9.3
Hasta5	2.37	13.95	18.42
Hasta6	7.93	7.64	12.79
Hasta7	4.34	12.07	14.32
Hasta8	2.56	34.65	13.32
Hasta9	4.25	2.57	3.42
Hasta10	4.13	13.07	1.42
Ortalama	3.971	10.147	9.004

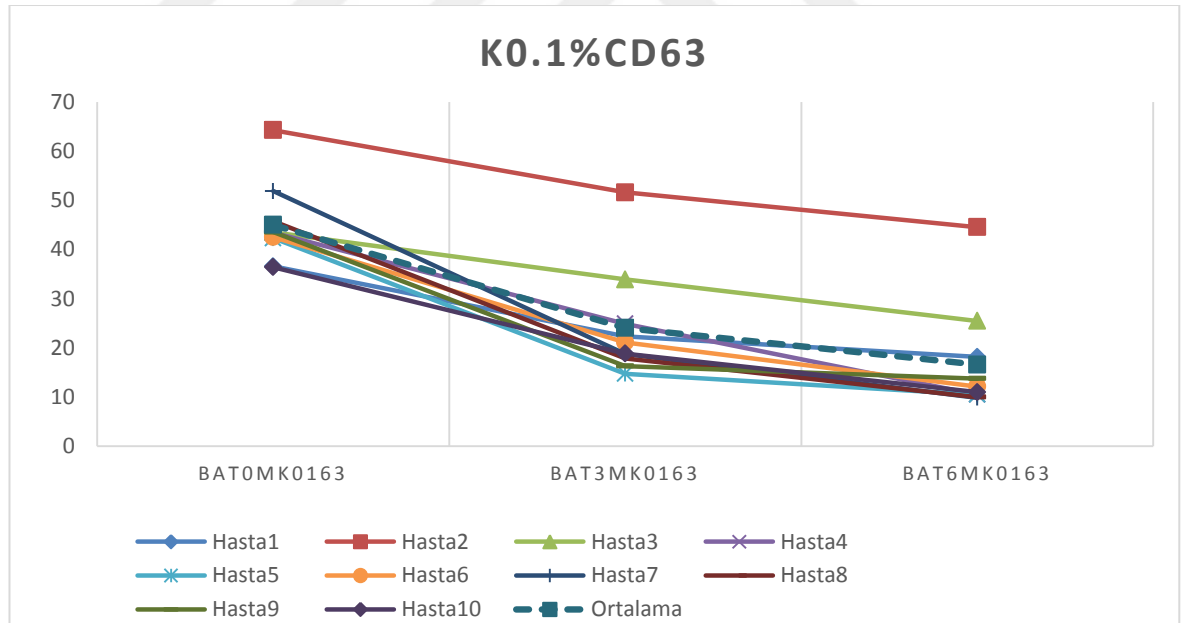


**Şekil 4.12.** FMLP ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişim grafiği.

Friedman testi sonuçlarına göre 0. gün, 3. ay ve 6. ay sonuçları arasında FMLP CD203c MFI değerlerinin değişimlerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır.  $X^2$  (sd=2, n=10) = 1.800, p=.407.

**Tablo 4.8.** Bazofil aktivasyon testi sonucu 0.1 mg/ml'lik konsantrasyon (K0.1) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde değişimleri.

Hasta No	0.Gün K0.1 CD63 %	3. Ay K0.1 CD63 %	6.ay K0.1 CD63 %
Hasta1	36.56	22.3	18.13
Hasta2	64.28	51.6	44.53
Hasta3	43.5	33.9	25.48
Hasta4	43.39	24.87	10.48
Hasta5	42.3	14.72	10.48
Hasta6	42.53	21.09	12.12
Hasta7	51.88	18.75	9.85
Hasta8	45.75	17.85	9.98
Hasta9	43.54	16.29	13.75
Hasta10	36.39	18.82	10.98
Ortalama	45.012	24.019	16.578

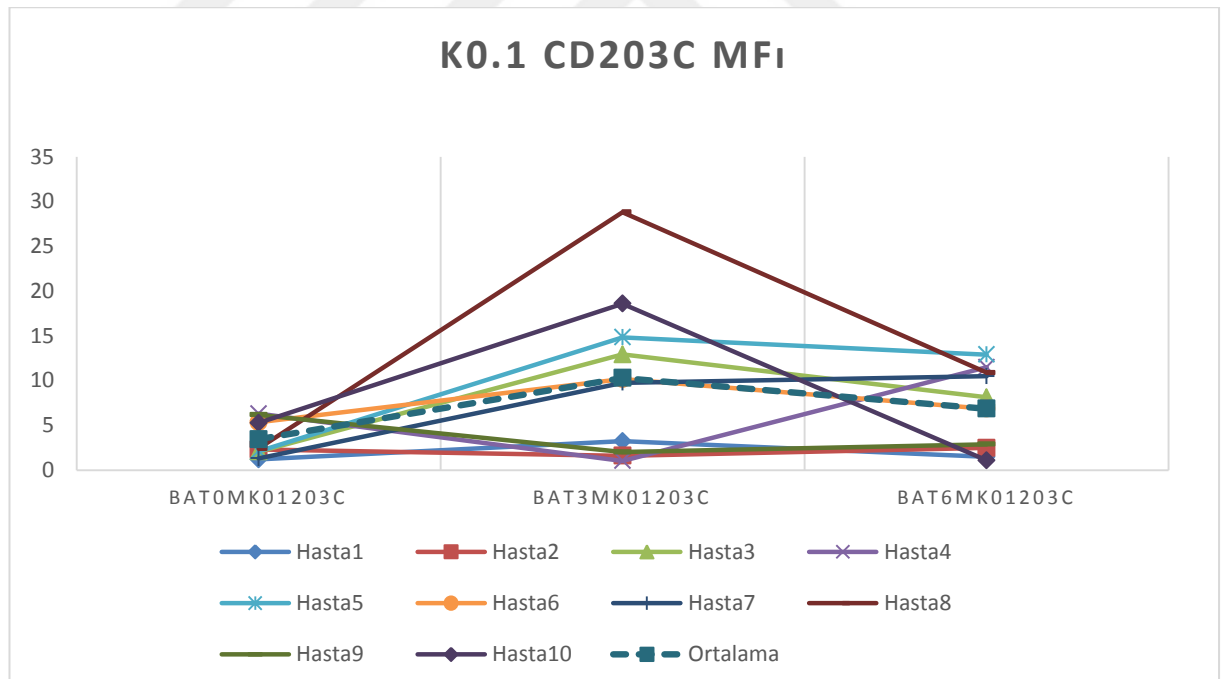


**Şekil 4.13.** 0.1 mg/ml'lik konsantrasyon (K0.1) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde dağılım grafiği.

Friedman testi sonuçlarına göre 0. gün, 3. ay ve 6. ay sonuçları arasında K0.1 yüzde CD63 değerlerinde anlamlı bir fark bulunmuştur.  $X^2$  (sd=2, n=10) = 20.000, p=.0001.

**Tablo 4.9.** Bazofil aktivasyon testi sonucu 0.1 mg/ml'lik konsantrasyon (K0.1) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişimleri.

Hasta No	0.Gün K0.1 CD203c MFI	3. Ay K0.1 CD203c MFI	6. Ay K0.1 CD203c MFI
Hasta1	1.19	3.22	1.48
Hasta2	2.29	1.61	2.48
Hasta3	2.07	12.92	8.12
Hasta4	6.3	1.03	11.48
Hasta5	2.1	14.83	12.89
Hasta6	5.33	10.16	6.86
Hasta7	1.32	9.76	10.48
Hasta8	2.4	28.81	10.88
Hasta9	6.17	2.01	2.88
Hasta10	5.27	18.58	1.09
Ortalama	3.444	10.293	6.864

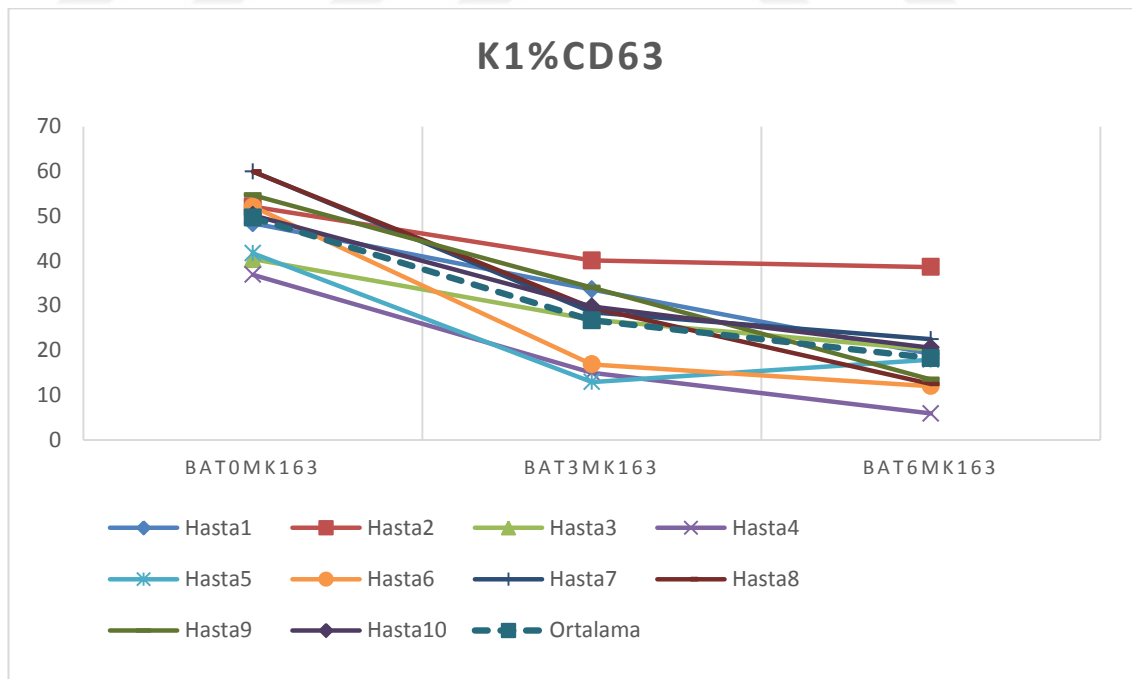


**Şekil 4.14.** 0.1 mg/ml'lik konsantrasyon (K0.1) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişim grafiği.

Friedman testi sonuçlarına göre 0. gün, 3. ay ve 6. ay sonuçları arasında K0.1 CD203c MFI değerlerinin değişimlerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır  $X^2$  (sd=2, n=10) = 3.800, p=.150

**Tablo 4.10.** Bazofil aktivasyon testi sonucu 1 mg/ml'lik konsantrasyon (K1) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde değişimleri.

Hasta No	0.Gün K1 CD63 %	3. Ay K1 CD63 %	6. Ay K1 CD63 %
Hasta1	48.37	33.58	19.19
Hasta2	52.12	40.08	38.59
Hasta3	40.36	26.84	20.11
Hasta4	36.9	15.01	5.89
Hasta5	41.69	12.94	17.92
Hasta6	52.08	16.85	11.99
Hasta7	59.95	28.47	22.49
Hasta8	59.89	29.49	12.49
Hasta9	54.7	34.03	13.49
Hasta10	50.2	29.78	20.59
Ortalama	49.626	26.707	18.275

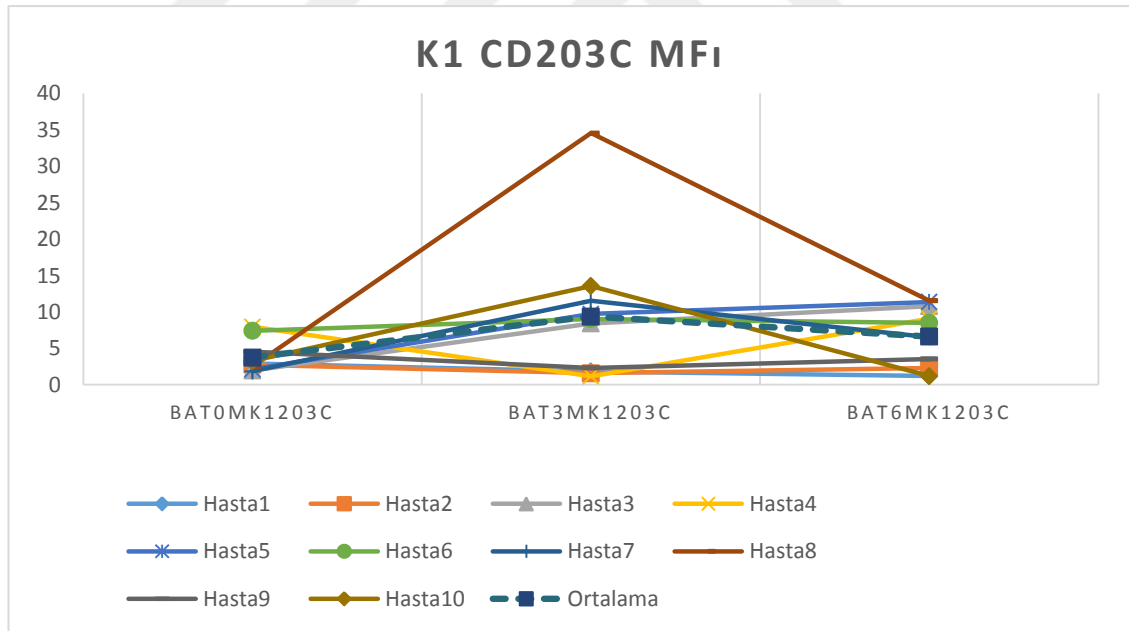


**Şekil 4.15.** 1 mg/ml'lik konsantrasyon (K1) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde dağılım grafiği.

Friedman testi sonuçlarına göre 0. gün, 3. ay ve 6. ay sonuçları arasında K1 yüzde CD63 değerlerinde anlamlı bir fark bulunmuştur.  $X^2$  (sd=2, n=10) = 18.200, p=.0001.

**Tablo 4.11.** Bazofil aktivasyon testi sonucu 1 mg/ml'lik konsantrasyon (K1) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişimleri.

Hasta No	0.Gün K1 CD203c MFI	3.Ay K1 CD203c MFI	6. Ay K1 CD203c MFI
Hasta1	2.92	1.84	1.21
Hasta2	2.76	1.59	2.31
Hasta3	1.96	8.43	10.8
Hasta4	7.96	1.18	9.08
Hasta5	2.14	9.71	11.37
Hasta6	7.42	9.03	8.51
Hasta7	1.86	11.52	6.54
Hasta8	2.53	34.53	11.54
Hasta9	4.53	2.32	3.54
Hasta10	3.25	13.55	1.19
Ortalama	3.733	9.37	6.609

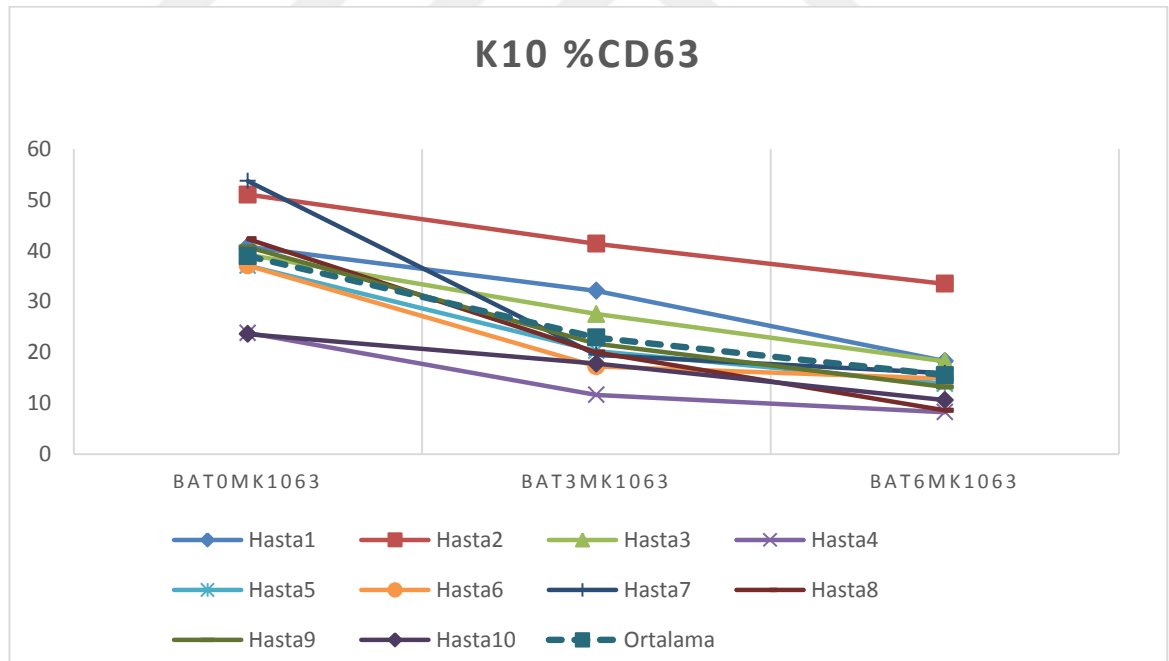


**Şekil 4.16.** 1 mg/ml'lik konsantrasyon (K1) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişim grafiği.

Friedman testi sonuçlarına göre 0.gün, 3. ay ve 6. ay sonuçları arasında K1 CD203c MFI değerlerinin değişimlerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır.  $X^2$  (sd=2, n=10) = .600, p=.741

**Tablo: 4.12.** Bazofil aktivasyon testi sonucu 10 mg/ml'lik konsantrasyon (K10) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. Ay CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde değişimleri.

Hasta No	0.Gün K10 CD63 %	3. Ay K10 CD63 %	6. Ay K10 CD63 %
Hasta1	40.8	32.11	18.3
Hasta2	51.02	41.38	33.49
Hasta3	39.19	27.56	18.27
Hasta4	23.84	11.66	8.26
Hasta5	37.05	20.29	13.85
Hasta6	37.1	17.28	14.85
Hasta7	53.7	19.53	15.95
Hasta8	42.33	20.04	8.62
Hasta9	40.72	21.75	13.21
Hasta10	23.63	17.81	10.63
Ortalama	38.938	22.941	15.543

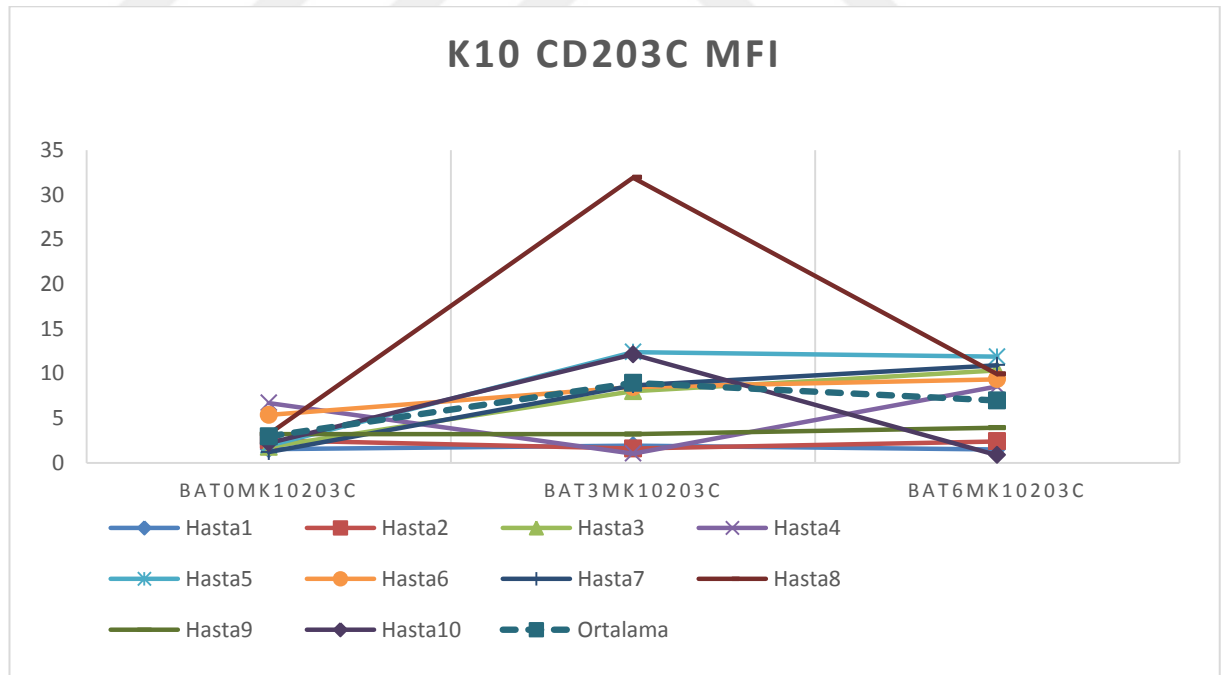


**Şekil 4.17.** 10 mg/ml'lik konsantrasyon (K10) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay da CD63<sup>+</sup> hücrelerin yüzde dağılım grafiği.

Friedman testi sonuçlarına göre 0.gün, 3. ay ve 6. ay sonuçları arasında (konsantrasyon) K10 yüzde CD63 değerlerinde anlamlı bir fark bulunmuştur.  $X^2 (sd=2, n=10) = 20.000$ ,  $p=.0001$ .

**Tablo 4.13.** Bazofil aktivasyon testi sonucu 10 mg/ml'lik konsantrasyon (K10) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişimleri.

Hasta No	0.Gün K10 CD203c MFI	3. Ay K10 CD203c MFI	6. Ay K10 CD203c MFI
Hasta1	1.52	1.93	1.5
Hasta2	2.52	1.59	2.4
Hasta3	1.77	8.01	10.33
Hasta4	6.7	1.04	8.55
Hasta5	1.93	12.39	11.87
Hasta6	5.36	8.47	9.36
Hasta7	1.2	8.68	10.93
Hasta8	3.21	31.93	9.92
Hasta9	3.21	3.21	3.93
Hasta10	2.21	12.13	0.86
Ortalama	2.963	8.938	6.965



**Şekil 4.18.** 10 mg/ml'lik konsantrasyon (K10) ile uyarılan hastalarda 0. gün, 3. ay ve 6. ay CD203c hücrelerin MFI değişim grafiği.

Friedman testi sonuçlarına göre 0.gün, 3. ay ve 6. ay sonuçları arasında K10 CD203c MFI değerlerinin değişimlerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır.  $X^2$  (sd=2, n=10) = 3,231, p=.199

Hastalarda CD63 ekspresyonunun farklı dilüsyonlarındaki yüzde ekspresyonu ve bu ekspresyonun 3. ve 6. aylardaki değişimi incelenmiştir. İmmünoterapi öncesi yapılan bazofil aktivasyon testi incelendiğinde çalışılan 3 farklı dilüsyonda da pozitiflik görülmüştür (negatif kontrole göre değerlendirildiğinde, %15'lik artış pozitif olarak kabul edilmiştir).

İmmünoterapi sonrası 3. ve 6. aylardaki yüzde CD63 ekspresyon değerlerine bakıldığında, çalışılan 3 dilüsyonda da (K0.1, K1, K10 ) CD63 ekspresyonun anlamlı bir düşüş gözlemlenmiştir ( $p=.0001$ ).

Hastalarda CD203c ekspresyonunun farklı ilaç dilüsyonlarındaki MFI değerleri negatif kontrole göre değerlendirildiğinde, immünoterapi öncesi yapılan testlerde pozitiflik görülmüştür (negatif kontrole göre değerlendirildiğinde, %15'lik artış pozitif olarak kabul edilmiştir).

Ancak immünoterapinin 3. ve 6. aylarında yapılan testlerde CD203c MFI değerlerinde anlamlı bir düşüş gözlemlenmemiştir ( $p>0.05$ ).

## 5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Araştırmamızda arı venom duyarlılığı tespit edilip venom immünoterapi (VİT) başlanmasına karar verilen hastalara immünoterapi öncesi üç farklı konsantrasyonda (0.1mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml) uygulanan BAT ile CD63 ekspresyonunda üç konsantrasyonda negatif kontrole oranla ortalama %69.2 artış gösterildi. Tüm hastalarda tüm konsantrasyonlarında CD63 pozitifliği saptandı. VİT öncesi bakılan CD 203c MFI değerlerinde üç konsantrasyonda da ortalama % 34 artış saptandı. Bu sonuçlar birlikte ele alındığında, hasta öyküsüyle uyumsuz sIgE ve deri prick test sonuçları içeren vakalarda BAT'ın tanı ve tedavi yönetimine katkıda bulunacak önemli bir in-vitro test olduğu gösterilmiştir. Ayrıca çalışmamızın ana amacı olan arı sokmasına karşı gelişen sistemik reaksiyonlarda arı venomları ile yapılan VİT'lerin etkinliğinin BAT ile değerlendirilmesinde CD63 takibinin CD203 MFI'ye göre daha duyarlı olduğu gösterildi. BAT ile takiplerde kullanılacak uygun doz venom konsantrasyonu da belirlenmiş oldu.

Deri testinde bal arısı ve yaban arısı venomlarının çapraz reaksiyonu sonucu spesifik IgE sonuçlarındaki çift duyarlılık sık görülen bir klinik problemdir. Bu durum hastanın hangi venomu karşı duyarlı olduğunun belirlenmesini zorlaştırmaktadır (Sturm ve ark., 2004; Ebo ve ark., 2007). Fakat hastanın öyküsünde arı türü net olarak belirlenebiliyorsa (Örneğin arıcılık yapan birinin bal arısı ile sokulması ve hastanın bunu net olarak ifade etmesi), deri testinde ve sIgE ölçümlerinde her iki duyarlılıkta saptansa bile öyküsü ile uyumlu olan arı venomu ile arı VİT yapılmaktadır. Fakat öykünün net olmadığı ve çifte duyarlılığın gösterildiği durumlarda BAT yöntemi tanıya katkı sağlayacak ve hastanın doğru arı venomu ile VİT yapılmasına katkıda bulunacaktır. Ayrıca arı sokması sonrası sistemik reaksiyon öyküsü olan, fakat DPT ve sIgE pozitifliği saptanmayan olgularda arı venom konsantrasyonları ile in-vitro BAT yapılması tanının konulmasına ya da ekarte edilmesine yardımcı olacaktır. Bu olgularda

arı venomuna karşı in-vitro ortamda BAT uygulaması, arılarla doğal provakasyon yapılması gereksinimini ortadan kaldırabilecektir. Ayrıca arılarla doğal provakasyon etik nedenler ve olası anafilaksi riski nedeniyle rutin pratikte birçok allerji biriminde rutinde kullanılmamaktadır.

Sturm ve ark. (2004) 57 hasta ile yaptığı çalışmada, CD63 ekspresyonları karşılaştırıldığında BAT, sIgE ve deri testlerinin duyarlılıkları sırasıyla % 87.7, 91.2 ve 93.0 oranlarında saptanmıştır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir. Hasta öyküsü pozitif olduğu halde deri testleri negatif olan hastalar değerlendirildiğinde BAT'ın duyarlılığı %100 bulunmuştur.

Erdmann ve ark. (2004) yaptığı başka bir çalışmada ise yaban arısı allerjisi olan 50 hastanın 46'sında BAT pozitif bulunmuştur (duyarlılık % 92). Deri testleri, sIgE ve BAT'ın sensitivitesini sırasıyla % 100, %76 ve %92, sIgE ve BAT'ın spesifitesini sırasıyla % 85 ve % 80 olarak bildirilmiştir. Yaban arısı venomuna karşı sIgE reaktivitesi ile CD63 reaktivitesi arasında pozitif bir korelasyon saptamışlardır.

Önceki çalışmalara benzer şekilde, Korosec ve ark. (2013) tarafından negatif sIgE'si olan hastalarda CD63 reaktivitesine bakıldığında BAT'ın tanısal duyarlılığının yaklaşık % 80 ve intradermal deri testinin duyarlılığının yaklaşık % 50 olduğu gösterilmiştir. Bir başka ifade ile, ciddi arı venom allerjisi öyküsü olup, hem sIgE hem de deri testleri negatif olan hastaların yarısının BAT ile başarılı bir şekilde belirlenebileceği gösterilmiştir. Bu sonuçlar venom duyarlılığının belirlenmesinde BAT'ın tanısal değerinin oldukça yüksek olduğunu ve diğer tanısal testlerle birlikte güvenle kullanılabilir bir in-vitro test olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda BAT'ı sadece hastaların duyarlı oldukları venomu saptamada değil, aynı zamanda hastalara uygulanan immünoterapinin etkinliğinin araştırılması için de kullandık. Çalışma sonunda bütün hastalarımızda 6 aylık immünoterapi sonrası CD63 ekspresyonlarında başlangıca göre her üç konsantrasyonda da anlamlı bir düşüş saptadık. CD203c MFI değerlerinde ise tüm hastalarımızda negatif kontrole oranla anlamlı bir artış olmasına rağmen immünoterapi uygulamasının 3. ve 6. aylarında CD203c MFI değerlerinde anlamlı bir azalma gözlemlenmedi. Bu da bize CD203c'nin bazofil aktivasyonunu göstermek için kullanılabilir güvenli bir marker olmasına

rağmen immünoterapi etkinlik izlenmesinde yeterli veriyi sağlayamayacağını göstermiştir.

Ebo ve ark. (2007) 80 hasta üzerinde yaptığı çalışmada immünoterapinin 5. gününde yapılan BAT'da bazofil cevabında başlangıca göre herhangi bir değişiklik gözlenmezken VİT'nin 6. ayında anlamlı bir düşüş saptanmıştır. Mikkelsen ve ark. (2010) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise ilk 10 haftalık VİT sonrası bazofil cevabında bir değişiklik olmazken 6 aylık VİT sonrası bazofil aktivasyonunda anlamlı derecede azalma saptanmıştır. Bu iki çalışmanın verileri de bizim çalışmamızla uyumludur. Kucera ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmada VİT etkinliğini saptamak için BAT ve arılarla doğal provakasyon karşılaştırıldığında 3 yıllık VİT uygulanan hastalarda arılarla doğal provakasyon uygulandıktan sonra reaksiyon gelişen hastaların BAT sonuçlarının reaksiyon gelişmeyen hastaların sonuçlarından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ülkemizde etik olarak arılarla doğal provakasyon testi uygulaması yapılamamasından dolayı bizim çalışmamızda böyle bir karşılaştırma yapılamamıştır. Ancak bu çalışma BAT'ın VİT etkinlik takibinde doğruluk oranı yüksek ve hasta güvenliği açısından önemli bir test olduğunu göstermektedir. Laudy ve ark. (2016) yaban arısı ve bal arısı ile sistemik reaksiyon yaşayan hastaların 21 haftalık takibinin sonucunda DPT ve sIgE değerlerinin aksine 10 haftalık VİT uygulamasından sonra bazofil aktivitesinde önemli bir azalma saptamışlardır. Çalışmamızda bu verilerle uyumlu olarak VİT uygulamasının 3. ayında başlangıç değerlerine göre 0.1, 1 ve 10 mg/ml lik konsantrasyonlarda sırasıyla %46.6, %46, % 41 oranında düşüş saptanmıştır.

Fakat bu çalışmalarla uyumlu olmayan raporlar da bildirilmiştir. Trabado ve ark. (2016) VİT sırasındaki bazofil reaktivitesi ile ilgili olarak, tedavi öncesi seviyelere kıyasla tedavinin ilk 3 ayında bazofil aktivasyonunda erken bir düşüş bildirmişler, fakat bu düşüşün 6 ila 18 aylık tedavide sürdürülmediğini saptanmıştır. Erdmann ve ark. (2004) CD63 yanıtının 6 aylık yaban arısı VİT'den sonra değişmediğini göstermiştir. Bu çalışmalarda anlamlı sonuçların gösterilememesi metodolojik farklılıklardan, kullanılan venom konsantrasyonlarından ve arı VİT yapılan hastaların karakteristik özelliklerinden kaynaklanabilir.

Son zamanlarda, CD203c ekspresyonunun bazofil aktivasyonunda duyarlılığının oldukça hassas olduğunu bildiren çalışmalarda mevcuttur. Arı venom allerjisi olan hastalarda CD203c up-regülasyonu, CD63 ekspresyonu ve histamin salınımı ile iyi

korelasyon gösterdiği ve bu nedenle bu ölçümün yararlı bir alternatif yaklaşım olabileceği ileri sürülmüştür (Sturm ve ark., 2004). CD 203c ve CD63 ekspresyonlarının etkinliğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada CD203c'nin, hastaların geçmişine göre CD63'e göre % 85.0'a karşı %79.7 hafif, ancak istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir duyarlılık gösterdiği bildirilmiştir (Sturm ve ark., 2010). Bunun aksine bizim çalışmamıza CD63 ve CD 203c MFI değerleri karşılaştırıldığında CD63'ün BAT' da daha etkin bir markır olduğu görülmüştür.

Çalışmamızın ana amacı olan arı sokmasına karşı gelişen sistemik reaksiyonlarda arı venomları ile yapılan VİT'lerin etkinliğinin BAT ile değerlendirilmesinde CD63 takibinin CD203 MFI'ye göre daha duyarlı olduğu gösterildi. İmmünoterapi öncesi (VİT başlamadan hemen önce) ve immünoterapi sonrası (3.ay - 6.ay) takip amacıyla yaptığımız BAT testlerinde kullandığımız 0.1mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml konsantrasyonlarında negatif kontrole göre en iyi CD 63 ekspresyonu ortalama %59 ile 1mg/ml'lik konsantrasyonda saptandı. 0.1 mg/ml'lik konsantrasyonda CD63 ekspresyonu ortalama % 44 iken, en düşük ekspresyon ortalaması %32 ile 10 mg/ml'lik konsantrasyonda saptandı.

Çalışmamızda ayrıca BAT ile takiplerde kullanılacak uygun doz venom konsantrasyonları da belirlendi. En uygun konsantrasyon 1mg/ml'lik konsantrasyon olarak saptandı. Erdmann ve ark. (2004) çalışmalarında, çalışmamızla benzer konsantrasyonlar (0.1mg/ml, 1 mg/ml) kullanmış olmalarına rağmen bazofil yanıtında iki konsantrasyonda da birbirine yakın değer bulmuşlardır (0.1mg/ml %28.99, 1 mg/ml 28.41). Bir başka çalışmada VİT planlanan hastalarda immünoterapi öncesi uyguladıkları BAT'da 0.1 mg/ml konsantrasyonda %41 CD63 ekspresyonu görülürken, 1 mg/ml konsantrasyonda %80 CD63 ekspresyonu saptanmıştır (Erzen ve ark., 2017). Ebo ve ark. (2007) ise çalışmamıza benzer olarak 4 farklı konsantrasyon kullanmış ve CD63 ekspresyon artışında 1 mg/ml'lik konsantrasyonun diğerlerinden daha etkili olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamız ile birlikte bu konu hakkında yapılan diğer çalışmalar değerlendirildiğinde BAT'da kullanılacak en uygun konsantrasyonun 1mg/ml'lik arı venomu olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak, çalışmamız bildiğimiz kadarıyla ülkemizde arı venom allerjisi nedeniyle VİT uygulanan hastalarda BAT'ın tanısal öneminin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Bu çalışma ile BAT'ın arı venom allerjisi tanısının konulmasında, tanıda kullanılan diğer

testlere yardımcı olabilecek bir in-vitro tanı metodu olduğu gösterilmiştir. Ayrıca VİT etkinliğini değerlendirmede özellikle BAT CD63 ekspresyon ölçümü ile takip yapılabileceği, VİT in-vitro olarak etkinliğinin BAT ile gösterilebileceği ortaya konulmuştur.



## 6. KAYNAKLAR

- Adib-Tezer H, Bayerl C. Honeybee and wasp venom allergy: Sensitization and immunotherapy. *J Dtsch Dermatol Ges*, 2018; 16(10):1228-1247.
- Allergen İmmünoterapisi: Ulusal Rehber 2016; 4(1):12-13.
- Antolín-Amérigo D, Ruiz-León B, Boni E, Alfaya-Arias T, Álvarez-Mon M, Barbarroja-Escudero J, González-de-Olano D, Moreno-Aguilar C, Rodríguez-Rodríguez M, Sánchez-González MJ, Sánchez-Morillas L, Vega-Castro A. Component-resolved diagnosis in hymenoptera allergy. *Allergol Immunopathol*, 2018;46(3):253-262.
- Aydın Ö, Sin B. A. Venom Immunotherapy Turkiye Klinikleri J Allergy-Special Topics,2008;1(1):47-55.
- Biló BM, Rueff F, Mosbech H, Bonifazi F, Oude-Elberink JN; EAACI Interest Group on Insect Venom Hypersensitivity. Diagnosis of Hymenoptera venom allergy. *Allergy*, 2005;60(11):1339-49.
- Bilò MB, Ollert M, Blank S. The role of component-resolved diagnosis in Hymenoptera venom allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2019;19(6):614-622.
- Boumiza R, Debard AL, Monneret G. The basophil activation test by flow cytometry: recent developments in clinical studies, standardization and emerging perspectives. *Clin Mol Allergy*, 2005;3:9.
- Canitez Y, Çekiç Ş, Sapan N. Arı allerjisi. *Klinik Tıp Pediatri Dergisi*, 2017; 9(2):109-116.

- Dhami S, Zaman H, Varga EM, Sturm GJ, Muraro A, Akdis CA, Antolín-Amérigo D, Bilò MB, Bokanovic D, Calderon MA, Cichočka-Jarosz E, Oude Elberink JN, Gawlik R, Jakob T, Kosnik M, Lange J, Mingomataj E, Mitsias DI, Mosbech H, Ollert M, Pfaar O, Pitsios C, Pravettoni V, Roberts G, Ruëff F, Sin BA, Asaria M, Netuveli G, Sheikh A. Allergen immunotherapy for insect venom allergy: asystematic review and meta-analysiss. *Allergy*, 2017; 72(3): 342-365.
- Eberlein B. Basophil Activation as Marker of Clinically Relevant Allergy and Therapy Outcome. *Front Immunol*, 2020;11:1815.
- Ebo DG, Bridts CH, Hagendorens MM, Aerts NE, De Clerck LS, Stevens WJ. Basophil activation test by flow cytometry: present and future applications in allergology. *Cytometry B Clin Cytom*, 2008 ;74(4):201-10.
- Ebo DG, Hagendorens MM, Schuerwegh AJ, Beirens LM, Bridts CH, De Clerck LS, Stevens WJ. Flow-assisted quantification of in vitro activated basophils in the diagnosis of wasp venom allergy and follow-up of wasp venom immunotherapy. *Cytometry B Clin Cytom*, 2007;72(3):196-203.
- Ebo DG, Sainte-Laudy J, Bridts CH, Mertens CH, Hagendorens MM, Schuerwegh AJ, De Clerck LS, Stevens WJ. Flow-assisted allergy diagnosis: current applications and future perspectives. *Allergy*, 2006;61(9):1028-39.
- Erdmann SM, Sachs B, Kwiecien R, Moll-Słodowy S, Sauer I, Merk HF. The basophil activation test in wasp venom allergy: sensitivity, specificity and monitoring specific immunotherapy. *Allergy*, 2004;59(10):1102-9.
- Eržen R, Košnik M, Silar M, Korošec P. Basophil response and the induction of a tolerance in venom immunotherapy: a long-term sting challenge study. *Allergy*, 2012;67(6):822-30.
- Ewan PW. Venom allergy. *BMJ*, 1998;316(7141): 1365–1368.
- Frezzolini A, Provini A, Teofoli P et al. Serum-induced basophil CD63 expression by means of tricolour flow cytometric method for the in vitro diagnosis of chronic urticaria. *Allergy*, 2006; 61: 1071-77.

- Gezer D, Şenel E, Süslü İ. Arı sokmalarına karşı oluşan reaksiyonlar. Genel Tıp Derg, 2012;22(3):102-108.
- Giavina-Bianchi P, Galvão VR, Picard M, Caiado J, Castells MC. Basophil Activation Test is a Relevant Biomarker of the Outcome of Rapid Desensitization in Platinum Compounds-Allergy. J Allergy Clin Immunol Pract., 2017;5(3):728-736.
- Hausmann OV, Gentinetta T, Bridts CH, Ebo DG. The basophil activation test in immediate-type drug allergy. Immunol Allergy Clin North Am, 2009;29(3):555-66.
- Hemmings O, Kwok M, McKendry R, Santos A. F. Basophil Activation Test: Old and New Applications in Allergy. Current Allergy and Asthma Reports, 2018; 18: 77.
- Korošec P, Šilar M, Eržen R, Čelesnik N, Bajrović N, Zidarn M, Košnik M. Clinical routine utility of basophil activation testing for diagnosis of hymenoptera-allergic patients with emphasis on individuals with negative venom-specific IgE antibodies. Int Arch Allergy Immunol. 2013;161(4):363-8.
- Krishna MT, Ewan PW, Diwakar L, Durham SR, Frew AJ, Leech SC, Nasser SM; British Society for Allergy and Clinical Immunology. Diagnosis and management of hymenoptera venom allergy: British Society for Allergy and Clinical Immunology (BSACI) guidelines. Clin Exp Allergy. 2011;41(9):1201-20.
- Kucera P, Cvackova M, Hulikova K, Juzova O, Pacht J. Basophil activation can predict clinical sensitivity in patients after venom immunotherapy. J Investig Allergol Clin Immunol. 2010;20(2):110-6.
- Leysen J, Sabato V, Verweij MM, De Knop KJ, Bridts CH, De Clerck LS, Ebo DG. The basophil activation test in the diagnosis of immediate drug hypersensitivity. Expert Rev Clin Immunol. 2011;7(3):349-55.
- Masilamani M, Kamalakannan M, Sampson HA. Basophil Degranulation Assay. Methods Mol Biol. 2017;1592:139-146.

- Mikkelsen S, Bibby BM, Dolberg MK, Dahl R, Hoffmann HJ. Basophil sensitivity through CD63 or CD203c is a functional measure for specific immunotherapy. *Clin Mol Allergy*, 2010;8(1):2. 21-27.
- Miyake K, Karasuyama H. Emerging roles of basophils in allergic inflammation. *Allergol Int*, 2017;66(3):382-391.
- Nakashima C, Otsuka A, Kabashima K. Recent advancement in the mechanism of basophil activation. *J Dermatol Sci.*, 2018;91(1):3-8.
- Pucca MB, Cerni FA, Oliveira IS, Jenkins TP, Argemí L, Sørensen CV, Ahmadi S, Barbosa JE, Laustsen AH. Bee updated: current knowledge on bee venom and bee envenoming therapy. *Front Immunol*, 2019;10:2090.
- Roberts G, Lack G. Diagnosing peanut allergy with skin prick and specific IgE testing. *J Allergy Clin Immunol*, 2005;115(6):1291–6.
- Rodríguez Trabado A, Cámara Hijón C, Ramos Cantariño A, Romero-Chala S, García-Trujillo JA, Fernández Pereira LM. Short-, Intermediate-, and Long-Term Changes in Basophil Reactivity Induced by Venom Immunotherapy. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2016;8(5):412-20.
- Ruëff F, Wenderoth A, Przybilla B. Patients still reacting to a sting challenge while receiving conventional bee venom immunotherapy are protected by increased venom doses. *J Allergy Clin Immunol*, 2001;108:1027-32.
- Sahiner UM, Durham SR. Hymenoptera venom allergy: how does venom immunotherapy prevent anaphylaxis from bee and wasp stings? *Front Immunol.*, 2019; 10:1959.
- Sainte-Laudy J, Touraine F, Cluzan D, Belle Moudourou F. Follow-Up of Venom Immunotherapy on Flow Cytometry and Definition of a Protective Index. *Int Arch Allergy Immunol*, 2016;170(4):243-250.
- Santos AF, Lack G. Basophil activation test: food challenge in a test tube or specialist research tool? *Clin Transl Allergy*, 2016;6:10.

- Schiener M, Graessel A, Ollert M, Carsten B, Weber S, Blank S. Allergen specific immunotherapy of Hymenoptera venom allergy also a matter of diagnosis. *Hum Vaccin Immunother.* 2017; 13(10):2467-2481.
- Sturm EM, Kranzelbinder B, Heinemann A, Groselj-Strele A, Aberer W, Sturm GJ. CD203c-based basophil activation test in allergy diagnosis: characteristics and differences to CD63 upregulation. *Cytometry B Clin Cytom.* 2010;78(5):308-18.
- Sturm GJ, Böhm E, Trummer M, Weiglhofer I, Heinemann A, Aberer W. The CD63 basophil activation test in Hymenoptera venom allergy: a prospective study. *Allergy*, 2004; 59(10):1110-7.
- Sturm GJ, Varga EM, Roberts G, Mosbech H, Bilò MB, Akdis CA, Antolín-Amérigo D, Cichocka-Jarosz E, Gawlik R, Jakob T, Kosnik M, Lange J, Mingomataj E, Mitsias DI, Ollert M, Oude Elberink JNG, Pfaar O, Pitsios C, Pravettoni V, Ruëff F, Sin BA, Agache I, Angier E, Arasi S, Calderón MA, Fernandez-Rivas M, Halken S, Jutel M, Lau S, Pajno GB, van Ree R, Ryan D, Spranger O, van Wijk RG, Dhimi S, Zaman H, Sheikh A, Muraro A. EAACI guidelines on allergen immunotherapy: Hymenoptera venom allergy. *Allergy.* 2018 ;73(4):744-764.
- Tankersley MS, Ledford DK. Stinging Insect Allergy: State of the Art 2015. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2015; 3:315-22.
- Tomsitz D, Brockow K. Component Resolved Diagnosis in Hymenoptera Anaphylaxis. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2017; 17(6):38.
- Verh K *Acad Geneesk Belg*, 2007;69(4):213-30.
- Yasnowsky KM, Dreskin SC, Efa B et al. Chronic urticaria sera increase basophil CD203c expression. *J Allergy Clin Immunol*, 2006;117:1430-34.

## **BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU(BGOF)**

### **Bilgilendirme**

Gerçekleştirecek olduğumuz “Arı Zehri Alerjisi Tanısında ve Arı Zehri İmmünoterapi Etkinliğinin Değerlendirilmesinde Bazofil Aktivasyon Testlerinin Yeri” başlıklı çalışmamıza arı alerjisi öyküsü olan ve deri testleri ve/veya kan testleri ile suçlu arıya karşı duyarlılık tespit edilen ve arı allerjisini iyileştirmek için arı aşısı başlanacak olan sizin gibi 20 hasta alınacaktır. Aşı öncesi ve aşı başladıktan sonra 3.ve6. ayda sizlerden 3 ml(mililitre)kan alınarak aşı tedavisinin etkinliği karşılaştırılacaktır. Arı aşısı etkinliğinin araştırılmasında cilt testi ve kandaki alerji hücrelerinin ölçülmesi testleri kullanılır. Bu testlere alternatif olarak immünoloji laboratuvarımızda uygulayacağımız, alerjik reaksiyona sebep olan maddenin laboratuvar ortamında kanla temas ettirilerek meydana gelen alerjik reaksiyona sebep olan hücrelerin cihazla ölçülmesi testi olan bazofil aktivasyon testi ile saptanan duyarlılığa bakarak aşımızın etkinliğini test edeceğiz. Ayrıca 3. ve 6. aylarda arıya karşı duyarlılığımızı deri tesleri ile de kontrol edeceğiz.Bu çalışmada sizden sadece poliklinik kontrolünde kan alınacak ve deri testleri yapılacaktır. Bunun dışında rutin poliklinik kontrolünüzü veya tedavinizi etkileyebilecek bir işlem veya girişimde bulunulmayacaktır. Bu test laboratuvar ortamında gerçekleştirileceğinden sizin için herhangi bir risk teşkil etmeyecektir Sizden ek bir tetkik istenmeyecek ve rutin planın dışında bir tedavi verilmeyecektir. Araştırmaya katılım isteğe bağlı olduğundan istediğiniz zaman, bir cezaya veya yaptırıma maruz kalmaksızın ve hiçbir hakkınızı kaybetmeksizin, araştırmaya katılmayı reddedebilir veya araştırmadan çekilebilirsiniz. Çalışmada elde edilen veriler ve size ait kimlik bilgileri gizli tutulacak ve herhangi biri veya kuruluşla paylaşılmayacaktır. Araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde kimlik bilgileriniz gizli kalacaktır.

Araştırma sürecinde 24 saat ulaşılabilir kişi:Uzm. Dr. Murat TÜRK, Telefon:

### **Gönüllü Oluru Bölümü**

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama, aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum.

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın, özgür irademle (kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

- Gönüllünün Adı / Soyadı / İmzası / Tarih
- Açıklamaları Yapan Hekimin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih
- Gerekliyse Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih
  - Gerekliyse Yasal Temsilcinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU (2011- KAİK-80)

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Hymenoptera Venom Allerjisi Tanısında ve Venom İmmunoterapi Etkinliğinin Değerlendirilmesinde Bozofil Aktivasyon Testlerinin Yeri					
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU							
DEĞERLEN DİRİLEN BELGELER	BELGE ADI	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili			
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	BELGE ADI	Açıklama					
	SİGORTA						
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ						
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU						
	İLAN						
	YILLIK BİLDİRİM						
	SONUÇ RAPORU						
	GÜVENLİK BİLDİRİMLERİ						
DİĞER							
KARAR BİLGİLERİ	Karar No :	2019/239	Tarih :	03.04.2019			
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.						

KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu
ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Sema Kader KÖSE

Unvanı / Adı Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyeti		Araştırma ile ilişkisi		Katılım (*)	
Prof. Dr. Sema Kader KÖSE	Tıbbi Biyokimya	E.Ü. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Prof. Dr. Ahmet ÖZTÜRK	Halk Sağlığı	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Prof.Dr.Murat SIPAHOĞLU	iç Hastalıkları	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Prof.Dr.Güven KAHRİMAN	Radyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Doç. Dr. Yusuf SEVİM	Genel Cerrahi	Kayseri Eğitim Hast.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Doç. Dr. Emin Murat CANGER	Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi	E.Ü. Diş Hek.Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Doç. Dr. Mehmet DOLANBAY	Kadın Hast. ve Doğum	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Doç. Dr. Fatih KARDAŞ	Çocuk Sağ. ve Hast.	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Doç. Dr. Serpil TAHERİ	Tıbbi Biyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Doç.Dr.Zafer SEZER	Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Doç. Dr. Gökmen ZARARSIZ	Biyostatistik	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Dr.Öğr.Üyesi Kemal Erdem BAŞARAN	Fizyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Av. Serhat ÜSTUNEL	Avukat	Hukuk Müşaviri	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Ecz. Şükran TERZİ	Eczacı	Serbest Eczacı	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>
Sevrap KOÇER	Sivil Üye	Serbest	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>

**KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU (2011 - KALK 80)**

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Hymenoptera Venom Allerjisi Tanısında ve Venom Immunoterapi Etkinliğinin Değerlendirilmesinde Bozofil Aktivasyon Testlerinin Yeri		
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU				
ETİK KURULU BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	ERCIYES ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU		
	AÇIK ADRES	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Melikgazi/KAYSERİ		
	TELEFON	0 352 437 49 10 - 11		
	FAKS	0 352 437 52 65		
	E-POSTA	sukriye@erciyes.edu.tr		
BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR / SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI / ADI / SOYADI	Doc.Dr.İnsu Yılmaz		
	KOORDİNATÖR SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Allerji-İmmünoloji		
	KOORDİNATÖR / SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri		
	VARSA İDARI SORUMLU UNVAN/ ADI SOYADI			
	DESTEKLEYİCİ			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMCİLCİSİ			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>	
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>	
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>	
FAZ 4		<input type="checkbox"/>		
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>		
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>		
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>		
İlaç dışı klinik araştırma		<input type="checkbox"/>		
Diğer ise belirtiniz	Yüksek Lisans Tezi			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEKMERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOKMERKEZ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/> · ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

# HYMENOPTERA VENOM ALLERJİSİ TANISINDA VE VENOM IMMUNOTERAPİ ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE BAZOFİL AKTİVASYON TESTLERİNİN YERİ

ÖZGÜNALLIK RAPORU

% **10**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **6**

İNTERNET  
KAYNAKLARI

% **6**

YAYINLAR

%

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

- 1** ÖZDEMİR, Öner. "Erken İlaç Hipersensitivite Reaksiyonlarında Bazofil Aktivasyonu ve Bazofil Aktivasyon Testi (BAT)", İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2017. % **3**  
Yayın
- 2** [www.aribalpolen.com](http://www.aribalpolen.com) % **1**  
İnternet Kaynağı
- 3** [www.geneltip.org](http://www.geneltip.org) % **1**  
İnternet Kaynağı
- 4** [www.turkiyeklinikleri.com](http://www.turkiyeklinikleri.com) % **1**  
İnternet Kaynağı
- 5** [www.caaad.org](http://www.caaad.org) % **1**  
İnternet Kaynağı
- 6** [onlinelibrary.wiley.com](http://onlinelibrary.wiley.com) <% **1**  
İnternet Kaynağı
- 7** [www.aid.org.tr](http://www.aid.org.tr) <% **1**  
İnternet Kaynağı

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı, Soyadı** : Tuğba RIHTIM  
**Uyruğu** : Türkiye Cumhuriyeti (TC)

### EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet
Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2006
Lise	Kayseri Sümer Lisesi	2000

### İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2007-Halen	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı	Biyolog

**Yabancı Dil** : İngilizce