

TEK SAĞLIK PERSPEKTİFİNDE DİJİTAL DÖNÜŞÜM VE GÜNCEL BİLİMSEL YAKLAŞIMLAR

EDİTÖR Doç. Dr. Tuğba DEMİR

Prof. Dr. Berrin TARAKÇI GENÇER

Doç. Dr. Çetin GENÇER

Dr. Canan KEBABÇIOĞLU

Osman Fatih KOPARIR



ISBN: 978-625-5753-64-9

Ankara - 2026

TEK SAĞLIK PERSPEKTİFİNDE DİJİTAL DÖNÜŞÜM VE GÜNCEL BİLİMSEL YAKLAŞIMLAR

EDİTOR

Doç. Dr. Tuğba DEMİR
Sivas Cumhuriyet Üniversitesi
ORCID ID: 0000-0002-5195-9372

YAZARLAR

Prof. Dr. Berrin TARAKÇI GENÇER¹

Doç. Dr. Çetin GENÇER²

Dr. Canan KEBABÇIOĞLU³

Osman Fatih KOPARIR⁴

¹Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Anabilim
Dalı, Elazığ, Türkiye
btarakci@firat.edu.tr
ORCID ID: 0000-0002-5931-9919

²Ahmet Yesevi Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Elektrik
Mühendisliği Bölümü, Türkistan Kazakistan
cetin.gencer@ayu.edu.kz

³Veteriner Mikrobiyoloji, DVM
kebabciogluc@gmail.com
ORCID ID: 0000-0001-7299-9923

⁴Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji Embriyoloji
Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye
241304208@firat.edu.tr

DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.18730054>



Copyright © 2026 by UBAK publishing house
All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, distributed or
transmitted in any form or by
any means, including photocopying, recording or other electronic or mechanical
methods, without the prior written permission of the publisher, except in the case of
brief quotations embodied in critical reviews and certain other noncommercial uses
permitted by copyright law. UBAK International Academy of Sciences Association
Publishing House®
(The Licence Number of Pubicator: 2018/42945)

E mail: ubakyayinevi@gmail.com

www.ubakyayinevi.org

It is responsibility of the author to abide by the publishing ethics rules.
UBAK Publishing House – 2026©

ISBN: 978-625-5753-64-9

February / 2026

Ankara / Turkey

ÖNSÖZ

Gıda güvenliği, halk sağlığı ve hayvan refahı arasındaki hassas denge, günümüzde dijital teknolojilerin ve moleküler inovasyonların sunduğu olanaklarla yeni bir boyuta evrilmektedir. Geleneksel analiz yöntemleri bilimsel değerini korumaya devam ederken; yapay zekâ, biyoinformatik ve dijital patoloji gibi disiplinler arası alanlar, karşılaşılan karmaşık sorunların çözümünde artık vazgeçilmez bileşenler hâline gelmiştir.

Elinizdeki bu eser, hayvansal kaynaklı gıdaların hijyeni ve güvenliği temelinde, modern bilimsel yaklaşımların dijital dönüşümle nasıl entegre edildiğini kapsamlı bir perspektifle ele almaktadır. Kitapta yer alan çalışmalar; aşı tasarımı hız ve maliyet etkinliğini artıran immünoinformatik uygulamalardan, zoonotik etkenlerin **Tek Sağlık** çerçevesinde genomik izlenmesine ve tanısal süreçlerde derin öğrenme temelli dijital restorasyon yöntemlerine kadar geniş bir bilimsel yelpazeyi kapsamaktadır.

Bu çalışma, disiplinler arası veri akışının, dijital standardizasyonun ve entegre analiz yaklaşımlarının gıda hijyeni ve halk sağlığı alanındaki stratejik önemini vurgulamayı amaçlamaktadır. Temel hedefimiz; gıda güvenliği ekosisteminde yer alan tüm paydaşlara, bilimin güncel araçlarından yararlanarak sürdürülebilir, güvenilir ve bilim temelli bir gelecek inşa etme yolunda rehberlik etmektir.

Bu kıymetli esere özgün çalışmalarıyla katkı sağlayan değerli bölüm yazarlarımıza teşekkür eder; kitabın akademik camiaya ve uygulama alanına katkı sunmasını temenni ederim.

22/02/2026

Doç. Dr. Tuğba DEMİR

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	4
İÇİNDEKİLER.....	6

BÖLÜM 1

VETERİNER MİKROBİYOLOJİDE BİYOİNFORMATİK YAKLAŞIMLARLA EPİTOP TASARIMI.....	(7-30)
--	---------------

Canan KEBABÇIOĞLU

BÖLÜM 2

TEK SAĞLIK KAPSAMINDA ZOONOTİK PATOJENLERDE BİYOİNFORMATİK YAKLAŞIMLAR.....	(31-42)
--	----------------

Canan KEBABÇIOĞLU

BÖLÜM 3

H&E BOYAMA HATALARININ DERİN ÖĞRENME YÖNTEMİ İLE ANALİZİ VE DİJİTAL RESTORASYONU	(43-93)
---	----------------

Fatih KOPARIR

Çetin GENÇER

Berrin TARAKÇI GENÇER

BÖLÜM 1

VETERİNER MİKROBİYOLOJİDE BİYOİNFORMATİK YAKLAŞIMLARLA EPİTOP TASARIMI

Dr. Canan KEBABÇIOĞLU

GİRİŞ

Veteriner mikrobiyoloji, patojenlere karşı immun sisteminin yanıtı belirleyen ve salgın hastalıklara karşı kontrol stratejilerinin geliştirilmesini sağlayan önemli bir bilim dalıdır. Bu alan, hayvanlardaki bulaşıcı hastalıkların nedenlerini anlamanın yanı sıra tanı, tedavi ve önleme stratejileri geliştirmek için kritik öneme sahiptir. Alan uzmanlarının önemli hedeflerinden biri, hayvanları hastalıklara karşı koruyarak zoonotik hastalıkların etkili bir şekilde kontrol edilmesini sağlamaktır. Bakteriyel ve viral patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlar sürü sağlığının bozulmasıyla süt ve et üretiminde verim ve üretim kayıpları, tedavi maliyetleri, hayvan refahı sorunları ve antibiyotik kullanımının artışı gibi çok boyutlu etkiler doğurmaktadır. Bu bağlamda hayvanlarda hastalıklara neden olan etkenleri tanımlayarak enfeksiyonları tedavi etmek için tanı testleri, aşılar ve antibiyotikler geliştirilmiştir (Quinn et al., 2011).

Veteriner hekimliğinde önemli düsturlardan biri hayvanı korumanın tedavi etmekten daha kıymetli olduğudur. Bu doğrultuda aşı çalışmaları büyük önem arz etmektedir. Geleneksel aşı geliştirme yöntemleri yıllardır veteriner hekimliğinde kontrol stratejilerinin

merkezinde yer almaktadır. Ancak inaktive ve attenüe aşıların üretim süresi, biyogüvenlik alt yapı ihtiyacı, organizmada değişken immun yanıt oluşturmaları, etkenlerin konak organizmaya adaptasyonu, serotip çeşitliliği gibi durumlar enfeksiyon kontrolünde bazı sorunlar yaratmaktadır (Tizard, 2024). Ayrıca geleneksel aşı yaklaşımları yüksek düzeyde immun yanıtı uyartabilecek antijenik determinantları yeteri kadar barındıramadığı için antijenler genellikle immünoglobulin ve T lenfositlerden kaçabilmektedir (Bryson et al., 2010). Son yıllarda bazı veteriner patojenlerde görülen serotip çeşitliliği, antijenik drift, konak türüne özgü immün yanıt farklılıkları ve MHC polimorfizmi gibi faktörler, klasik aşı platformlarının etkinliğini daha da karmaşık hale getirmiştir. Gelişen teknoloji ile daha etkili aşıların geliştirilebilmesi için yeni yöntemler denenmektedir. Şu ana kadar bu yöntemlerden immun yanıtın önceden analiz edilebildiği, daha etkili aşı adayı olabilecek epitopların seçilebildiği immunoinformatik tabanlı yöntemler geliştirilmiştir (Elrashedy et al., 2025). İmmunoinformatik, bağışıklık sistemini stimüle eden epitopların bilgisayar tabanlı tahmini ve analizine olanak sağlayan biyoinformatik yöntemlerle doğrudan ilişkilidir (Bahrami et al., 2019). Yapılan çalışmalar incelendiğinde Hindistan $\approx 150-200$, Çin $\approx 80-120$, Pakistan $\approx 60-90$, ABD $\approx 20-35$, Avrupa (Almanya, İtalya, İspanya) $\approx 20-40$ (toplam), Türkiye’de bu konuda yeteri kadar çalışma bulunmamaktadır. Dolayısıyla gelişen aşı teknolojisiyle immunoinformatik sistemlere yönelim artmaktadır. Bu bağlamda epitop tabanlı aşı dizaynı ile hedeflenen spesifik epitopların seçilmesiyle immünolojik olarak daha etkili immun yanıt oluşturma potansiyeli veteriner mikrobiyoloji alanında geleneksel aşılarla

alternatif olarak öne çıkmaktadır (Li et al., 2025). İmmunoinformatik yöntemler analizlerin preklinik öncesi uygulamalarını in silico yapılabilmesine olanak sağlayarak hem zaman hem de maliyet açısından büyük avantaj sağlamaktadır. Bu yöntemle antijenik determinant proteinlerinden B hücresi epitopları, T hücresi epitopları, MHC Class I/II epitopları, popülasyon tahmini ve adjuvan/linker eklenmesi gibi analizlerle daha etkili bir tasarım süreci yürütülmektedir (Dhanda et al., 2019). Bu analizlerle birlikte proteinlerin iki ve üç boyutlu yapısı, antijenitesi, allerjenitesi, toksisitesi ve konak ekspresyon sistemlerine uygunluğu da incelenmektedir. Bu özellikler, geleneksel aşılarla kıyasla daha güvenilir ve test edilmesi daha kolay, kontrollü immun yanıt oluşturma potansiyeli sunmaktadır (Shukla & Mani, 2024). Yapılan analizlerle geleneksel aşı geliştirme prosedürlerinin aldığı zamandan onlarca kat daha hızlı taramalarla ön analizler yapılabilmektedir (Oli et al., 2020). Ayrıca kültüre edilmesi zor ve zaman alıcı etkenlerinde gerekli in silico analizleri yapılarak aşı epitopları oluşturulması sağlanır. Son zamanlarda yapılan çalışmaların özellikle zoonotik viral ve bakteriyel etkenler üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir (Youssef et al., 2025). Ancak yoğunlaşan çalışmalara rağmen, immunoinformatik yaklaşımla veteriner mikrobiyolojide epitop tasarımı alanın gelişmekte olan yöntemlerinden olup bu konuda daha fazla çalışmalara ihtiyaç vardır. Veri bankalarında mevcut bulunan hayvan türlerine göre MHC haplotip çeşitliliği, türlere göre immün sistem hücre farklılıkları, üretim sistemlerinin tam anlamıyla yeterli olmayışı gibi mevcut eksikliklerin olduğu bildirilmektedir (Mukherjee et al., 2025).

Epitopların İmmunolojik İlişkileri

İmmunoinformatik yaklaşımlarla patojenlere karşı geliştirilen aşılardan, konağın immün sisteminin bu epitoplara verdiği yanıtın belirlenebilmesi başarı ölçütü olarak büyük önem arz etmektedir. Epitop; etkenlerin antijenik determinantlarının immün sistem tarafından tanınan kısımlarını içermektedir. Bu kısımlara karşı spesifik yanıtlar mekanizmaları hem humoral hem de hücreli bağışıklığı kapsamaktadır. Bu epitopların en önemlileri B ve T lenfosit epitoplarıdır (Van Regenmortel, 2009). İmmunoglobulinler genellikle antijenlerin üç boyutlu yapılarını doğrudan tanıyıp bu bölgelere özgü oluşur. Bu epitopların çoğu farklılaşmış yapısal epitoplardır ve proteinlerin katlanmış üç boyutlu yapısına tutunurlar. B lenfositleri humoral bağışıklıkta rol oynar ve bakteriyel etkenlerde toksin nötralizasyonu, opsonizasyon ve kompleman aktivasyonu ile işlevselliğini yansıtır (Potocnakova et al., 2016). T hücresi epitopları, antijen sunan hücrelerde (APC) işlenip MHC'ler üzerinden sunulur ve T lenfositleri tarafından tanınmasıyla oluşur. Bu epitop grubu hücre içi patojenlere karşı oldukça önemli savunma mekanizmalarını oluşturur. Bu kapsamda B ve T hücresi epitop tahminleri immunoinformatik yaklaşımlı yöntemler açısından oldukça önemlidir (Pishesha et al., 2022).

İmmunoinformatik Yöntemlerin Evrimi

İmmunoinformatik veri tabanları ve basit epitop tahmin modellerinin gelişmesiyle 1990'lı yılların bitimine yakın ilk olarak ortaya çıkmaya başlamıştır (Rawat et al., 2023). Ancak o dönemde var

olan modeller çok sınırlı verilere sahip olduğu için gerekli çalışmalarla daha da geliştirilerek 2000’lerde daha kullanışlı hale getirilip daha fazla model üretilmiştir. Bu sayede kapsamlı analizlerle daha iyi epitop tahminleri yapılmaktadır. Aynı dönemde IEDB (Immune Epitope Database) gibi global veri tabanlarının kurulması hem insan hem de hayvan patojenlerine ait epitop verilerinin aktarılacak ve açık erişime sunulması alanın daha da ilerlemesini sağlamıştır. Veri tabanlarının büyümesi yalnızca tarama kapasitesini değil, makine öğrenimi modellerinin eğitilebilirliğini de güçlendirmiştir (Vita et al., 2019). Gelişen alanla birlikte yapay sinir ağları, skorlama fonksiyonları, regresyon tabanlı tahminler ve hibrit modeller gibi daha ileri tekniklerde ortaya çıkmıştır. Bu modellerin büyük çoğunluğu beşeri alanda fazlaca veri barındırmasına rağmen son zamanlarda veteriner alanında da veriler artmaktadır (Nielsen et al., 2020). Son yıllarda bu alan giderek gelişip daha derin analizler yapabilme gücü kazanmıştır. Bununla birlikte yalnızca epitop tahmini değil, toksisite, allerjenite, proteaz hassasiyeti, yapısal stabilite, popülasyon kapsama oranı, adjuvan entegrasyonu ve antijenik skor gibi analizler de yapılabilir hale gelmiştir (Basmenj et al., 2025). Gelişmekte olan bu alan veteriner mikrobiyoloji de yapılacak çalışmalar açısından da önem arz etmektedir.

Epitop Tahmin Araçları ve Veri Tabanları

İmmün sistem tarafından tanınan epitopların tahmin edilebilmesi, immunoinformatik yöntemle aşı tasarımının en önemli adımlarındandır. Bu süreçte hem veri tabanlarını hem de tahmin

modellerini kapsayan çok adımlı bir pipeline şeklinde işler. Kullanılan araçlar genel olarak üç ana başlık altında toplanır: (i) veri tabanları, (ii) epitop tahmin modelleri ve (iii) verileri değerlendirme/filtreleme araçları.

Veri Tabanları

Epitop veri tabanlarının ilk kurulan en kapsamlı kabul edilen Immune Epitope Database (IEDB) olup; B ve T hücre epitoplarının in vitro doğrulandığı, MHC molekülleri tarafından sunulan peptit ligandlarına ait bağlanma afinitesi verilerini içermektedir (Vita et al., 2019). IEDB veteriner sahada yeteri kadar veriye sahip olmaması önemli dezavantajlarından olsa da her geçen gün bu verilerin kapsayıcılığı artmaktadır. Son yıllarda sığır, domuz ve kanatlılara ait patojenlerle ilgili veriler artmaktadır. IEDB'ye benzer veri tabanları da bulunmaktadır. UniProt, NCBI Protein, PDB, Pfam, InterPro, STRING gibi veritabanları dizi ve yapı temelli verileri barındırarak multi-epitope tasarımlarında sıklıkla kullanılmaktadır ("UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021," 2021). Protein yapısının bilinmediği durumlarda AlphaFold2 gibi yapı tahmin modellerinin kullanımıyla veri tabanlarının kapsamı genişletilmektedir (Jumper et al., 2021).

B Hücresi Epitop Tahmin Modelleri

B hücreleri epitoplarının sahip oldukları kompleks yapı, tahmin mekanizmalarını zorlamaktadır. B epitoplarında ilk olarak BepiPred, ABCpred gibi dizi bazlı epitop tahmini yapan araçlar kullanılmıştır. Conformational epitope prediction için Ellipro, DiscoTope ve SEPPA

gibi modeller yeni nesil araçlardan olup üç boyutlu epitop tahminleri üzerine özelleşmiştir. Bu modellerde yine daha çok beşeri veriler üzerine kurulmuş olsa da veteriner sahada da veri setlerinin günden güne arttığı görülmektedir (Jumper et al., 2021).

T Hücresi Epitop Tahmin Modelleri

T hücreleri epitop tahmin modelleri genellikle MHC Class I ve Class II üzerinden epitop tahmini yapar. Bu modeller; motif tabanlı modeller, yapay sinir ağı/ML tabanlı modeller, pan-specifik modeller olarak 3 grupta toplanır (Reynisson et al., 2020). MHC epitop tahmini yapan en yaygın model NetMHCpan-4.1 / NetMHCIIpan-4.0 olarak bilinir. Bu modellerde de veteriner alanından yeteri kadar veri bulunmamasına rağmen araştırmacılar insanlarda bulunan HLA sistemi üzerinden tahminlerde yapabilmektedirler. Hayvan türlerine ait BoLA (sığır), OLA (koyun), SLA (domuz) ve B-complex (kanatlı) verileri gün geçtikçe artmaktadır (Nielsen et al., 2020).

Değerlendirme Araçları ve Filtreler

Multi-epitop tasarımı yapılırken sadece epitopların bağlanma ölçüleri değerlendirmeye alınmaz. Bu süreçte değerlendirilen önemli parametreler ve bu parametreleri değerlendiren veri tabanları;

Antijeniklik → VaxiJen, ANTIGENpro

Allerjenite → AllerTOP, AllergenFP

Toksisite → ToxinPred

Proteaz parçalanma tahmini → Proteosomal kesim araçları

Popölasyon kapsama oranı → IEDB population coverage

Yapısal stabilite → FoldX, AlphaFold2

Molekölör bağlanma → ClusPro, HADDOCK

Dinamik simölasyon → GROMACS, Amber olarak bilinmektedir (Bui et al., 2006; Colovos & Yeates, 1993; Gasteiger et al., 2005).

Bir epitopun organizma için zararlı olup olmasının tahmini için antijen olup olmadığı önemli konulardandır. Antijenik bir proteinin immun sistemi uyurabilme gücü vardır. Antijen olarak belirlenen epitopun kullanılabilmesi için toksik ve alerjen olmaması gerekmektedir. Bu parametrelerden geçebilen epitoplar ileri aşamalar için kullanılabilir (Calis et al., 2013; Doytchinova & Flower, 2007; Gupta et al., 2013)

Multi-Epitop Aşı Tasarım Süreci

Multi-epitop aşı tasarım süreci, geleneksel aşıda geliştirme sürecinden farklı olarak önce in vivo değil, in vitro deneyler tasarlanır, aşının in vivo uygulanıp uygulanmayacağı böyle belirlenir. Tüm analizlerden başarılı şekilde geçen peptitler aşı olabilme potansiyeli taşır. Bu süreç içerisinde gerçekleşen tüm analizler in silico aşı dizaynı olarak adlandırılır (Wei et al., 2025). İn silico aşı tasarım sürecinde uygulanan immunoinformatik analizler, sistematik bir hesaplamalı iş akışı kapsamında ardışık basamaklar şeklinde yapılandırılmaktadır. Bu basamaklar aşağıda sunulmuştur.

1. Antijen Seçimi

Multi epitop aşı dizaynında ilk adım hedef patojenin sahip olduğu antijenik determinantların belirlenmesidir. Bu yapıların belirlenmesi aşının tasarım sürecinde immun sistem yanıtının belirlenmesi ve aşının omurgasının şekillenmesi için oldukça önemlidir. Özellikle bakteriyel patojenlerde surface proteinler immun yanıtı güçlü stimüle eden yapılardır. Bu amaç için bakteriyel etkenler için Virülens Faktör Database (VFDB) ve literatürdeki ağırlıklı çalışılan virülens faktörleriyle belirlenebilir (Gandvi et al., 2025). Antijenler belirlendikten sonra GenBank (NCBI) ve UniProt gibi protein dizi veri tabanlarından hedef genlere ait diziler çekilerek in silico analizlere başlanabilir. Bu kapsamda proteinlerin virulent olup olmadığı, antijenitesi, hücre içi lokalizasyonu gibi özellikleri kapsayıcı analizler yapılır (Fatehi et al., 2023).

2. Epitop Tahminleri

Antijenik determinantlar belirlendikten sonra B ve T hücre epitoplarının tahminleri yapılır. Bu tahminlere göre modellerin verdiği rank değerleri dikkate alınarak en yüksek değere sahip epitoplar kullanılır. Epitop tahminlerde sadece hücrelere bağlanma gücü değil aynı zamanda hidrofobisite, immunogenite skorları, toksijenite ve allerjenite durumları da incelenir. Hedeflenen etkili aşı tasarımları için bu parametreler oldukça önemlidir (Keshri et al., 2023). B lenfosit epitop tahminleri için BepiPred, ABCpred gibi modeller kullanılırken, MHC Class I ve II için NetMHCpan-4.1 ve NetMHCIIpan-4.0 modelleri kullanılır.

3. Linker ve Adjuvan Tasarımı

Multi-epitop aşı tasarımı epitopların birleşim sonrası immunojenik gücünün artırılması için linker peptit ve peptit adjuvanlar eklenir. Linker sekansları, yan yana konumlanan epitopların yapısının bozulmadan MHC'lere sunulmasını sağlar. Böylece her bir epitopun farklı diziler olduğu immun sistem tarafından anlaşılır. Multi-epitop aşı tasarımı en yaygın kullanılan linkerlar: AAY (Class I epitopları için) GPGPG (Class II epitopları için) EAAAK (yapısal stabilizasyon için) gibi işlevsel peptitlerdir (Mahafujul Alam et al., 2025). Peptit adjuvanlar ise immun yanıtı güçlendirecek yapıya sahip kısa immunoaktif peptit dizileridir. Bu yapıların eklenmesiyle antijen sunumu daha da artarak güçlü immun yanıt şekillenmesi sağlanır. Yaygın peptit adjuvanlar: PADRE (Pan-DR epitope), Helper T-hücre epitopları (Th epitopları), CPP'ler (Hücrel Penetrasyon Peptitleri), Defensin-türevi peptitler gibi dizilerdir (Nezafat et al., 2014; Nezafat et al., 2015).

4. İki ve Üç Boyutlu Yapıların Belirlenmesi

Proteinlerin moleküler yapılarının belirlenmesi immun sistem hücre epitopları açısından önemlidir. Bu epitop tahminlerinin yüksek doğrulukla belirlenebilmesi için doğru yapı tahminlerine ihtiyaç vardır. Bu amaçla üretilmiş özel modeller ile yapı tahmini yapılabilir. AlphaFold2 ve RoseTTAFold gibi modeller, yapısal tahmin araçlarıdır (Bravi, 2024). AlphaFold2 (AF2), DeepMind tarafından geliştirilen ve amino asit dizilerinden proteinlerin üç boyutlu (3B) yapılarını atomik düzeyde doğrulukla tahmin edebilen bir yapay zekâ (YZ) sistemidir.

Homolog proteinler ve çoklu dizi hizalamaları bilgilerini kullanarak amino asit dizilerinden protein yapıları üretmek üzere eğitilmiş yeni bir uçtan uca derin sinir ağı kullanır. Protein yapısı tahmini, hesaplamalı biyoloji ve kimyadaki en zorlu problemlerden biridir ancak AF2'nin ortaya çıkışı, protein yapısı tahmininde üstün ilerlemeyi sağlamıştır (Dill & MacCallum, 2012). RoseTTAFold ise üç kanallı" bir sinir ağıdır; yani protein dizilerindeki örüntüleri, bir proteinin amino asitlerinin birbirleriyle nasıl etkileşimde bulunduğunu ve bir proteinin olası üç boyutlu yapısını aynı anda dikkate alır. Derin öğrenme tabanlı bir algoritmaya sahip olan RoseTTAFold Sürekli Otomatik Model Değerlendirme (CAMEO) projesi kapsamında proteinler üzerinde test edildiğinde, geleneksel yöntemlere ve diğer derin öğrenme yaklaşımlarına kıyasla daha belirgin bir performansa sahip algoritmadır. Ayrıca RoseTTAFold protein-protein etkileşimlerini de tahmin edebilen modeldir (Baek et al., 2021).

5. Moleküler Etkileşim Tahmini

Multi-epitop aşı tasarımı epitop tahmini yapılırken belirlenen epitopların birbirleri arasındaki etkileşimlerin belirlenmesi önemlidir. Moleküller, aralarındaki statik yapıya nasıl uyum sağladığı, oluşan yapının kararlılığının belirlenmesi için moleküler etkileşim tahminleri yapılmalıdır. Bu amaçla AMDock v1.5.2, HDock gibi modeller kullanılır. AMDock protein-ligand komplekslerinin etkileşimlerini tahmin eden modeldir (Valdés-Tresanco et al., 2020). AMDock, yapı dosyalarını doğru bir şekilde hazırlamak ve arama alanını en uygun şekilde tanımlamak için çeşitli harici programları

(Open Babel, PDB2PQR, AutoLigand, ADT komut dosyaları) entegre eder ve çeşitli alternatifler ve farklı derecelerde kullanıcı denetimi sunar (Santos-Martins et al., 2014). AMDock v1.5.2, HDOCK modeller, kompleksin zaman içindeki stabilitesini, esnekliğini ve bağlanma enerjisini değerlendirmeye olanak tanır. Bu simülasyonlar sayesinde çeşitli hesaplama parametreleriyle yapıdaki hidrojen bağlarının dayanıklılığını da analiz eder; bu da kompleksin kararlılığı hakkında detaylı bilgi verir (Zaher et al., 2025).

6. Kodon Optimizasyonu ve İn Silico Klonlama

Multi epitop aşı tasarımı bir aşamada epitopların rekombinant olarak üretilmesidir. Rekombinasyon veriminin artırılması için proteini üretecek sistemle protein dizilerinin uyumlu olması lazım bunun içinde kodon optimizasyonu yapılmalıdır. Optimizasyon sonrası CAI (Codon Adaptation Index), GC içeriği ve ribozomal bağlanma dizisi gibi parametrelerde dikkate alınmalıdır (Sharp & Li, 1987). Kodon optimizasyonu için JCAT, OPTIMIZER, GENEius ve GenScript modelleri kullanılmaktadır. JCAT (Java Codon Adaptation Tool) hedef genin eksprese edilecek organizmanın kodon kullanımına adapte etmek için kullanılan modeldir. CAI (Codon Adaptation Index) hesaplaması çıkarır ve aynı zamanda istenmeyen restriksiyon enzimi kesim bölgeleri veya Rho-bağımsız bölgelerinin çıkarılmasına izin verir (Grote et al., 2005). OPTIMIZER, GENEius ve GenScript modelleri de JCAT gibi hedef genin eksprese edilecek organizmanın kodon kullanımına adapte etmek için kullanılan modellerdir (Puigbò et al., 2007). Kodon optimizasyonu sonrasında

hedef vektöre in silico klonlama yapılır. İn silico klonlama ile sanal olarak genlerin veya epitop dizilerinin sanal şekilde vektöre veya plazmide aktarılmasının simülasyonu yapılır. Bu aşamada multi epitop aşı tasarımı oldukça önemlidir. Bu amaçla SnapGene, NEB Builder gibi araçlarla in silico klonlama yapılmakta ve vektör tasarımı doğrulanmaktadır (Ali et al., 2024).

Veteriner sahada multi-epitop aşı çalışmaları

Veteriner saha için multi epitop aşı tasarımı oldukça yeni bir alandır. Dolayısıyla bu alanda sınırlı çalışma bulunmaktadır. Ancak gün geçtikçe daha da yaygınlaşmaktadır. Bakteriyel patojenler göz önüne alındığında sahada en yaygın etkenler *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae* olarak bilinmektedir. Bu etkenler kaynaklı hastalıklarda önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu amaçla; Süt sığırlarında mastitisin kontrolü için, *Streptococcus agalactiae*'nin yüzey immünojenik proteinini hedefleyen çoklu epitop bazlı aşının immunoinformatik kullanılarak tasarlanması (Pathak et al., 2022), Süt sığırlarında mastitisin kontrolü için, *Streptococcus agalactiae*'ya karşı aşı tasarımı (Pathak et al., 2022), ayrıca diğer etkenlere karşı çalışmalarda yapılmıştır; *Shigella sonnei*'ye karşı: (Aiman et al., 2023). Viral etkenlere karşı ; Kedilerde bulaşıcı peritonit virüsünü (Chawla et al., 2023), Domuz Üreme ve Solunum Sendromu Virüsüne Karşı (Lei et al., 2024). Paraziter etkenlere karşı; Tavuklarda *Eimeria*'ya karşı (Chen et al., 2023), *Toxoplasma gondii*'ye karşı (Ghaffari & Rahimi, 2024) çalışmalar bulunmaktadır.

SONUÇ

Veteriner sahada multi epitop aşı tasarımı, geleneksel metotların dezavantajlarına alternatif olabilecek nitelikte yöntemlerdir. Bu yöntemde antijen seçimi ve immünolojik parametrelerin analizi, yapı modellemesi, kodon optimizasyonu gibi basamaklarla aşı adayı olabilecek peptitler seçilir. Bu analizlerin in silico yapılması süreci hızlandırarak geleneksel aşılarla üstünlük sağlar. Multi epitop aşı tasarımı ile tek sağlık kapsamında önemli bir konu olan antibiyotik direnci seviyesinde de önemli azalmalar sağlanabilir. Ayrıca zoonoz hastalıkların kontrolü ve sürdürülebilir hayvansal üretim sistemlerinin desteklenmesi açısından stratejik bir araştırma alanı olduğu değerlendirilebilir.

KAYNAKÇA

- Aiman, S., Ahmad, A., Khan, A., Ali, Y., Malik, A., Alkholief, M., Akhtar, S., Khan, R. S., Li, C., Jalil, F., & Ali, Y. (2023). Vaccinomics-aided next-generation novel multi-epitope-based vaccine engineering against multidrug resistant *Shigella Sonnei*: Immunoinformatics and chemoinformatics approaches. *PloS one*, 18(11), e0289773.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289773>
- Ali, L., Rauf, S., Khan, A., Rasool, S., Raza, R. Z., Alshabrm, F. M., Khan, T., Suleman, M., Waheed, Y., Mohammad, A., & Agouni, A. (2024). In silico design of multi-epitope vaccines against the hantaviruses by integrated structural vaccinology and molecular modeling approaches. *PloS one*, 19(7), e0305417.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0305417>
- Baek, M., DiMaio, F., Anishchenko, I., Dauparas, J., Ovchinnikov, S., Lee, G. R., Wang, J., Cong, Q., Kinch, L. N., & Schaeffer, R. D. (2021). Accurate prediction of protein structures and interactions using a three-track neural network. *science*, 373(6557), 871-876.
- Bahrami, A. A., Payandeh, Z., Khalili, S., Zakeri, A., & Bandehpour, M. (2019). Immunoinformatics: In Silico Approaches and Computational Design of a Multi-epitope, Immunogenic Protein. *Int Rev Immunol*, 38(6), 307-322.
<https://doi.org/10.1080/08830185.2019.1657426>

- Basmenj, E. R., Pajhouh, S. R., Ebrahimi Fallah, A., najjian, R., Rahimi, E., Atighy, H., Ghiabi, S., & Ghiabi, S. (2025). Computational epitope-based vaccine design with bioinformatics approach; a review. *Heliyon*, 11(1).
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e41714>
- Bravi, B. (2024). Development and use of machine learning algorithms in vaccine target selection. *npj Vaccines*, 9(1), 15.
<https://doi.org/10.1038/s41541-023-00795-8>
- Bryson, C., Jones, T., & Baker, M. (2010). Prediction of Immunogenicity of Therapeutic Proteins. *BioDrugs : clinical immunotherapeutics, biopharmaceuticals and gene therapy*, 24, 1-8. <https://doi.org/10.2165/11318560-000000000-00000>
- Bui, H.-H., Sidney, J., Dinh, K., Southwood, S., Newman, M. J., & Sette, A. (2006). Predicting population coverage of T-cell epitope-based diagnostics and vaccines. *BMC bioinformatics*, 7(1), 153.
- Calis, J. J., Maybeno, M., Greenbaum, J. A., Weiskopf, D., De Silva, A. D., Sette, A., Keşmir, C., & Peters, B. (2013). Properties of MHC class I presented peptides that enhance immunogenicity. *PLoS computational biology*, 9(10), e1003266.
- Chawla, M., Cuspoca, A. F., Akthar, N., Magdaleno, J. S. L., Rattanabunyong, S., Suwattanasophon, C., Jongkon, N., Choowongkamon, K., Shaikh, A. R., Malik, T., & Cavallo, L. (2023). Immunoinformatics-aided rational design of a multi-epitope vaccine targeting feline infectious peritonitis virus

- [Original Research]. *Frontiers in Veterinary Science*, Volume 10 - 2023. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1280273>
- Chen, C., Su, J., Lu, M., Xu, L., Yan, R., Li, X., & Song, X. (2023). Protective efficacy of multiepitope vaccines constructed from common antigens of *Eimeria* species in chickens. *Veterinary Research*, 54(1), 119. <https://doi.org/10.1186/s13567-023-01253-y>
- Colovos, C., & Yeates, T. O. (1993). Verification of protein structures: patterns of nonbonded atomic interactions. *Protein science*, 2(9), 1511-1519.
- Dhanda, S. K., Mahajan, S., Paul, S., Yan, Z., Kim, H., Jespersen, M. C., Jurtz, V., Andreatta, M., Greenbaum, J. A., Marcatili, P., Sette, A., Nielsen, M., & Peters, B. (2019). IEDB-AR: immune epitope database-analysis resource in 2019. *Nucleic Acids Res*, 47(W1), W502-w506. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz452>
- Dill, K. A., & MacCallum, J. L. (2012). The protein-folding problem, 50 years on. *science*, 338(6110), 1042-1046.
- Doytchinova, I. A., & Flower, D. R. (2007). VaxiJen: a server for prediction of protective antigens, tumour antigens and subunit vaccines. *BMC bioinformatics*, 8(1), 4.
- Elrashedy, A., Nayel, M., Salama, A., Zaghawa, A., El-Shabasy, R. M., & Hasan, M. E. (2025). Foot-and-mouth disease: genomic and proteomic structure, antigenic sites, serotype relationships, immune evasion, recent vaccine development strategies, and future perspectives. *Veterinary Research*, 56(1), 78. <https://doi.org/10.1186/s13567-025-01485-0>

- Fatehi, Z., Doosti, A., & Jami, M. S. (2023). Oral vaccination with novel *Lactococcus lactis* mucosal live vector-secreting *Brucella* lumazine synthase (BLS) protein induces humoral and cellular immune protection against *Brucella abortus*. *Archives of Microbiology*, 205(4), 122.
- Gandvi, D., Jyotishi, C., Patel, M., & Gupta, R. (2025). In silico design of a multi-epitope pan vaccine targeting *Schistosoma* species. *Genomics & Informatics*, 23(1), 21.
<https://doi.org/10.1186/s44342-025-00053-4>
- Gasteiger, E., Hoogland, C., Gattiker, A., Duvaud, S. e., Wilkins, M. R., Appel, R. D., & Bairoch, A. (2005). Protein identification and analysis tools on the ExPASy server. In *The proteomics protocols handbook* (pp. 571-607). Springer.
- Ghaffari, A. D., & Rahimi, F. (2024). Immunoinformatics studies and design of a novel multi-epitope peptide vaccine against *Toxoplasma gondii* based on calcium-dependent protein kinases antigens through an in-silico analysis. *Clin Exp Vaccine Res*, 13(2), 146-154. <https://doi.org/10.7774/cevr.2024.13.2.146>
- Grote, A., Hiller, K., Scheer, M., Münch, R., Nörtemann, B., Hempel, D. C., & Jahn, D. (2005). JCat: a novel tool to adapt codon usage of a target gene to its potential expression host. *Nucleic Acids Res*, 33(Web Server issue), W526-531.
<https://doi.org/10.1093/nar/gki376>
- Gupta, S., Kapoor, P., Chaudhary, K., Gautam, A., Kumar, R., Consortium, O. S. D. D., & Raghava, G. P. (2013). In silico

- approach for predicting toxicity of peptides and proteins. *PloS one*, 8(9), e73957.
- Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., Green, T., Figurnov, M., Ronneberger, O., Tunyasuvunakool, K., Bates, R., Židek, A., Potapenko, A., Bridgland, A., Meyer, C., Kohl, S. A. A., Ballard, A. J., Cowie, A., Romera-Paredes, B., Nikolov, S., Jain, R., Adler, J.,...Hassabis, D. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, 596(7873), 583-589. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
- Keshri, A. K., Kaur, R., Rawat, S. S., Arora, N., Pandey, R. K., Kumbhar, B. V., Mishra, A., Tripathi, S., & Prasad, A. (2023). Designing and development of multi-epitope chimeric vaccine against *Helicobacter pylori* by exploring its entire immunogenic epitopes: an immunoinformatic approach. *BMC bioinformatics*, 24(1), 358. <https://doi.org/10.1186/s12859-023-05454-2>
- Lei, X., Wu, Z., Feng, Q., Jia, W., Xie, J., Zhou, Q., Ban, J., & Zhu, S. (2024). A Universal Multi-Epitope Vaccine Design Against Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus via Bioinformatics and Immunoinformatics Approaches. *Veterinary Sciences*, 11(12), 659. <https://www.mdpi.com/2306-7381/11/12/659>
- Li, J., Ju, Y., Jiang, M., Li, S., & Yang, X. Y. (2025). Epitope-Based Vaccines: The Next Generation of Promising Vaccines Against Bacterial Infection. *Vaccines (Basel)*, 13(3). <https://doi.org/10.3390/vaccines13030248>

- Mahafujul Alam, S. S., Mir, S. A., Samanta, A., Nayak, B., Ali, S., & Hoque, M. (2025). Immunoinformatics based designing of a multi-epitope cancer vaccine targeting programmed cell death ligand 1. *Scientific Reports*, 15(1), 12420. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-87063-y>
- Mukherjee, R., Verma, N., Bhagat, A., & Verma, C. K. (2025). Immunoinformatics: Expanding frontiers and emerging tools in bioinformatics for immunology. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*.
- Nezafat, N., Ghasemi, Y., Javadi, G., Khoshnoud, M. J., & Omidinia, E. (2014). A novel multi-epitope peptide vaccine against cancer: an in silico approach. *Journal of theoretical biology*, 349, 121-134.
- Nezafat, N., Sadraeian, M., Rahbar, M. R., Khoshnoud, M. J., Mohkam, M., Gholami, A., Banihashemi, M., & Ghasemi, Y. (2015). Production of a novel multi-epitope peptide vaccine for cancer immunotherapy in TC-1 tumor-bearing mice. *Biologicals*, 43(1), 11-17.
- Nielsen, M., Andreatta, M., Peters, B., & Buus, S. (2020). Immunoinformatics: Predicting Peptide-MHC Binding. *Annu Rev Biomed Data Sci*, 3, 191-215. <https://doi.org/10.1146/annurev-biodatasci-021920-100259>
- Oli, A. N., Obialor, W. O., Ifeanyichukwu, M. O., Odimegwu, D. C., Okoyeh, J. N., Emechebe, G. O., Adejumo, S. A., & Ibeanu, G. C. (2020). Immunoinformatics and Vaccine Development: An

- Overview. Immunotargets Ther, 9, 13-30.
<https://doi.org/10.2147/itt.S241064>
- Pathak, R. K., Lim, B., Kim, D. Y., & Kim, J. M. (2022). Designing multi-epitope-based vaccine targeting surface immunogenic protein of *Streptococcus agalactiae* using immunoinformatics to control mastitis in dairy cattle. *BMC Vet Res*, 18(1), 337. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03432-z>
- Pishesha, N., Harmand, T. J., & Ploegh, H. L. (2022). A guide to antigen processing and presentation. *Nat Rev Immunol*, 22(12), 751-764. <https://doi.org/10.1038/s41577-022-00707-2>
- Potocnakova, L., Bhide, M., & Pulzova, L. B. (2016). An Introduction to B-Cell Epitope Mapping and In Silico Epitope Prediction. *J Immunol Res*, 2016, 6760830. <https://doi.org/10.1155/2016/6760830>
- Puigbò, P., Guzmán, E., Romeu, A., & Garcia-Vallvé, S. (2007). OPTIMIZER: a web server for optimizing the codon usage of DNA sequences. *Nucleic Acids Research*, 35(suppl_2), W126-W131. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm219>
- Quinn, P. J., Markey, B. K., Leonard, F. C., Hartigan, P., Fanning, S., & Fitzpatrick, E. (2011). *Veterinary microbiology and microbial disease*. John Wiley & Sons.
- Rawat, S. S., Keshri, A. K., Kaur, R., & Prasad, A. (2023). Immunoinformatics Approaches for Vaccine Design: A Fast and Secure Strategy for Successful Vaccine Development. *Vaccines*, 11(2), 221. Retrieved 2023/01//, from <http://europepmc.org/abstract/MED/36851099>

- <https://doi.org/10.3390/vaccines11020221>
- <https://europepmc.org/articles/PMC9959071>
- <https://europepmc.org/articles/PMC9959071?pdf=render>
- Reynisson, B., Alvarez, B., Paul, S., Peters, B., & Nielsen, M. (2020). NetMHCpan-4.1 and NetMHCIIpan-4.0: improved predictions of MHC antigen presentation by concurrent motif deconvolution and integration of MS MHC eluted ligand data. *Nucleic Acids Res*, 48(W1), W449-w454.
- <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa379>
- Santos-Martins, D., Forli, S., Ramos, M. J., & Olson, A. J. (2014). AutoDock4(Zn): an improved AutoDock force field for small-molecule docking to zinc metalloproteins. *J Chem Inf Model*, 54(8), 2371-2379. <https://doi.org/10.1021/ci500209e>
- Sharp, P. M., & Li, W. H. (1987). The codon Adaptation Index--a measure of directional synonymous codon usage bias, and its potential applications. *Nucleic Acids Res*, 15(3), 1281-1295. <https://doi.org/10.1093/nar/15.3.1281>
- Shukla, S., & Mani, A. (2024). Immunoinformatics and Vaccine Development. In (pp. 115-131). https://doi.org/10.1007/978-981-97-7123-3_6
- Tizard, I. R. (2024). *Veterinary immunology-E-book: Veterinary immunology-E-book*. Elsevier Health Sciences.
- UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021. (2021). *Nucleic Acids Res*, 49(D1), D480-d489. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1100>

- Valdés-Tresanco, M. S., Valdés-Tresanco, M. E., Valiente, P. A., & Moreno, E. (2020). AMDock: a versatile graphical tool for assisting molecular docking with Autodock Vina and Autodock4. *Biol Direct*, 15(1), 12.
<https://doi.org/10.1186/s13062-020-00267-2>
- Van Regenmortel, M. H. (2009). What is a B-cell epitope? *Methods Mol Biol*, 524, 3-20. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-450-6_1
- Vita, R., Mahajan, S., Overton, J. A., Dhanda, S. K., Martini, S., Cantrell, J. R., Wheeler, D. K., Sette, A., & Peters, B. (2019). The Immune Epitope Database (IEDB): 2018 update. *Nucleic Acids Res*, 47(D1), D339-d343.
<https://doi.org/10.1093/nar/gky1006>
- Wei, Y., Qiu, T., Ai, Y., Zhang, Y., Xie, J., Zhang, D., Luo, X., Sun, X., Wang, X., & Qiu, J. (2025). Advances of computational methods enhance the development of multi-epitope vaccines. *Briefings in Bioinformatics*, 26(1).
<https://doi.org/10.1093/bib/bbaf055>
- Youssef, E. G., Elnesr, K., & Hanora, A. (2025). In Silico Design of a Multiepitope Vaccine Against Intestinal Pathogenic *Escherichia coli* Based on the 2011 German O104:H4 Outbreak Strain Using Reverse Vaccinology and an Immunoinformatic Approach. *Diseases*, 13(8), 259. <https://www.mdpi.com/2079-9721/13/8/259>
- Zaher, M. R., El-Husseiny, M. H., Hagag, N. M., El-Amir, A. M., El Zowalaty, M. E., & Tammam, R. H. (2025). A novel immunoinformatic approach for design and evaluation of

heptavalent multiepitope foot-and-mouth disease virus vaccine.
BMC Veterinary Research, 21(1), 152.
<https://doi.org/10.1186/s12917-025-04509-1>

BÖLÜM 2

TEK SAĞLIK KAPSAMINDA ZOONOTİK PATOJENLERDE BİYOİNFORMATİK YAKLAŞIMLAR

Dr. Canan KEBABÇIĞLU

GİRİŞ

Hayvanlardan insanlara aktarılabilen hem halk sağlığını hem de ekosistemi etkileyen etkenler zoonoz olarak adlandırılır. Bu etkenlerin yayılımını rezervuarlar sağlamaktadır. Etkenlerin kontrolü için, insan, hayvan ve çevre sağlığının ayrılmaz bir bütün olduğu Tek Sağlık (One Health) kapsamında ele alınmaktadır (Atlas, 2012). Beşeri ve veteriner alanları arasındaki disiplinler ayrışmanın toplum genelinde varlığını sürdürmesi, Tek Sağlık yaklaşımının uygulamaya aktarılmasına yönelik gereksinimi daha da artırmaktadır (Horefti, 2023). Tek sağlık yaklaşımı, zoonozların önlenmesi ve kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Graham ve arkadaşları tarafından, ortaya çıkan insanlardaki kontagiyöz hastalıkların %75'inin zoonotik olarak tanımlandığı bildirilmiştir (Graham et al., 2008; WHO, 2005). Bu yaklaşım sadece zoonozların tanımlanmasının yanı sıra, kaynaklarını, yayılım mekanizmalarını ve risk parametrelerini insan-hayvan-çevre bağlamında değerlendirir (Shaheen, 2022). Yeni ve yeniden ortaya çıkan zoonozlar, son otuz yılda kısmen insanların hayvanlara ve ürünlerine olan artan bağımlılığının ve evcil hayvanlarla olan yakın ilişkimizin bir sonucu olarak evrimleşmiştir. Bu nedenle zoonozlar, bulaşıcı hastalıklar açısından insan sağlığı ve refahı için en

kritik risk faktörü olarak kabul edilmelidir. Ulusal Bilimler Akademisi, Tıp Enstitüsü tarafından insanlarda görülen 1461 bulaşıcı hastalıktan yaklaşık %60'ı, çeşitli türler arasında hareket etmeleriyle karakterize edilen çok konaklı patojenlerden kaynaklanmaktadır (Institute of Medicine Committee on Emerging Microbial Threats to Health in the 21st, 2003).

Moleküler biyoloji ve biyoinformatik teknolojileri, zoonozların genom profilini detaylı incelemeye olanak tanımıştır. Bu alanlarla, tüm genom dizileme, karşılaştırmalı genomik analiz ve filogenetik inceleme gibi yöntemlerle patojenlerin türler arası ilişkisinin mekanizmalarını moleküler düzeyde anlaşılmasına imkân tanır (Scarpa & Cxasu, 2024). Biyoinformatik temelli genomik analizler ile konağa özgü mutasyonlar, yatay gen transferi, virülans faktörlerinde değişimler ve adaptasyon süreçleri belirlenerek, zoonozlarla ilgili risklerin daha kolay anlaşılmasını sağlar (Lawal et al., 2025). İnsan-hayvan-çevre arasındaki genomik bağlam zoonoz hastalıkların yayılım nedenlerini anlamaya yardımcı olur. Çünkü zoonozlar bazen konakta latent seyrederken çevresel stimülasyon ile konaklar arası yayılım potansiyeli artar (Urban et al., 2023). Moleküler biyoloji ve biyoinformatik teknolojileri, bakteriyel ve viral genoma ek antimikrobiyal direnç (AMR) genlerinin insan, hayvan ve çevresel rezervuarlar arasındaki yayılımının izlenmesi gibi daha kompleks durumları da aydınlatır (Feng et al., 2025). Bu sayede insanlar için önemli bir problem olan antibiyotik direncinin hem insan hem hayvan bazlı yaygınlığını belirleyerek gerekli kontrol stratejilerinin hayata geçirilmesini sağlar. AMR'nin kontrolü için çok yönlü bir 'Tek Sağlık' yaklaşımı gereklidir. Genomik teknolojiler, AMR

genlerinin ve mutasyonlarının mikrobiyal popölasyonlar içinde ve arasında mobilizasyonu, kalıcılığı ve yaygınlığının izlenmesini mümkün kılmıştır. Ayrıca AMR rezervuarını anlama ve aktarım mekanizmasının açıklanmasına olanak sağlamıştır (Djordjevic et al., 2024). Gelişen teknolojiyle birlikte kullanımı yaygınlaşan biyoinformatik araçlar, zoonotik patojenler hakkında daha fazla bilgiye sahip olunmasını sağlamıştır. Bu kapsamda makine öğrenimi destekli modelleme ve yeni nesil dizileme (NGS) gibi uygulamalar kullanılarak zoonozların izlenmesini hem mekânsal hem de zamansal olarak izleme kapasitesini artırmıştır. Ayrıca, genomik, virölans faktörleri ve antijenik bileşenlerin tanımlanması dahil olmak üzere patojen genomları hakkında ayrıntılı bilgi sağlayarak daha etkili aşılarda tasarımı kolaylaştırır (Bah et al., 2018). NGS teknikleri kullanılarak patojenlerin yüksek doğrulukla ve en hızlı şekilde tanımlanmasına olanak sağlamıştır. Bu avantaj salgınlar durumlarında (küresel çapta yaşanan COVID-19 pandemisi gibi) zamanında müdahalelerin uygulanması için kritik öneme sahiptir (Robinson et al., 2013).

Zoonoz hastalıkların kontrolünde evrimsel kökenlerin belirlenmesi; doğal konakların, bulaş yollarının, yayılım gücünün saptanması ile AMR'lerin izlenmesi ve kontrol stratejilerinin geliştirilmesi açısından önemlidir. Bu amaçla filogenetik analizler yapılmaktadır. Organizmanın ait olduğu filogenetik sınıfla ilişkisinin belirlenmesini sağlayan filogenetik analizler bahsedilen durumlar açısından önem arz eder (Robinson et al., 2013). Tek Sağlık kapsamında zoonozların evriminde insan vakaları kadar hayvan vakaları da önemlidir çünkü patojen etkenlerin büyük kısmı evrim süreçlerini

hayvanlarda tamamlar. Bu nedenle hayvan sürülerinde zoonotik ajanların moleküler düzeyde izlenmesi, hastalık riskinin azaltılması ve halk sağlığı kontrol stratejilerinin daha zamanlı planlanması için kritik öneme sahiptir (Qiu et al., 2023). Sonuçta zoonozların moleküler düzeyde izlenmesi biyoinformatik analizlerle doğrudan bağlantılı olup Tek Sağlık kapsamında zoonozların erken tespiti ve kontrol stratejilerinin geliştirilmesi çerçevesinde oldukça önemlidir (Catalano et al., 2024).

Tek Sağlık yaklaşımında genomik epidemiyoloji terimi de önemli yere sahiptir. Bu terim, patojen genom dizilerinin epidemiyolojik verilerle entegre edilerek bulaşma dinamiklerinin, yayılım yollarının ve evrimsel değişimlerin analiz edilmesini amaçlayan disiplinler arası bir alandır (Gardy & Loman, 2018). Bu alan zoonozların daha hızlı ve doğru şekilde tespitine olanak sağlar. Zoonozlar açısından bakıldığında insanlarda vakalara sebep olmadan önce hayvanlarda latent seyri göstermesi genomik epidemiyoloji sayesinde tespit edilmiştir. İnsan, hayvan ve çevresel numunelerden elde edilen genomik veriler bulaşmanın evrimini göstermektedir. Bu durum Tek Sağlık yaklaşımının genomik dinamiğini oluşturur (Destoumieux-Garzón et al., 2018). NGS ile zoonozların daha kolay ve hızlı tespiti etkenlerin eş zamanlı izlenmesini kolaylaştırdığından sayede salgın kaynaklarının belirlenmesi ve bulaş haritalarının çıkarılması açısından önemlidir (Didelot et al., 2012). Genomik epidemiyolojide salgın süreçlerinin tahmini en kritik noktalardan biridir. Etkenlerin epidemiyolojik olarak izlenmesiyle salgın süreçlerinin erkenden tahmin edilmesi yaşanacak olası epidemi,

pandemi gibi durumların önünü geçilmesine olanak sağlar (Van Goethem et al., 2019). Genomik epidemiyolojinin ilerlemesinde makine öğrenmesi ve yapay zekâ tabanlı biyoinformatik modellerin önemli katkıları vardır (Libbrecht & Noble, 2015). Bu modeller, geniş kapsamlı genomik veri kümelerinden elde edilen örüntüleri analiz ederek, olası salgın risklerini ve yayılım senaryolarını öngörmeyi amaçlamaktadır. Bu modeller sayesinde zoonoz etkenlerin konak affinitesi, genomik çeşitliliği ve çevresel faktörlerin birlikte analiz edilmesi Tek Sağlık kapsamında insan-hayvan-çevre bileşenlerinin risk analizlerini mümkün kılmaktadır (Escobar, 2020). Sonuçta genomik epidemiyoloji, zoonoz etkenlerin izlenerek çevre-hayvan-halk sağlığı açısından biyoinformatik temelli en önemli araçlardan biri olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte Tek Sağlık konseptine entegre edilen genomik analizler insan, hayvan ve çevre sağlığının korunmasında önemli stratejilerin geliştirilmesini mümkün kılmaktadır (Destoumieux-Garzón et al., 2018).

Tek Sağlık yaklaşımında Veteriner sahada Biyoinformatik Kapasite Kısıtları

Zoonoz etkenlerle çalışılırken biyoinformatik alanında bazı sınırlayıcı durumlar bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri biyoinformatik araçların büyük çoğunluğu beşerî alandaki verileri barındırırken veteriner sahaya alakalı veriler sınırlı durumdadır. Bir diğer eksiklikte farklı lokalizasyonlardan elde edilen genomik verilerin yeterince kapsayıcı kitlelere ulaşamayan veri tabanlarıyla sunulmasıdır. Aynı şekilde hayvan türlerine göre spesifik MHC, B ve T lenfosit

çeşitliliğini barındıran veri tabanlarının yetersizliğinden kaynaklı spesifik epitopların elde edilmesi zorlaşmaktadır (Coker et al., 2023; Wardeh et al., 2015). Veri entegrasyon kısıtlarında biri de beşerî ve veteriner hekimliği arasındaki veri paylaşımlarının etik, yasal ve teknik engelleridir. Bu durumdan dolayı epidemiyolojik modellerin ve salgın tahminlerinin ortaya çıkması da zorlaşmaktadır (Meeusen et al., 2007). Bu alanda veteriner saha verilerinin yetersizliği Tek Sağlık yaklaşımının kapsamında olası salgınların erken tespitini zorlaştırmaktadır. Bu hem hayvan hem de halk sağlığı açısından önemli olup ortaya çıkabilecek kontagiyöz etkenlerin kontrolünü zorlaştırmaktadır (Oltean et al., 2025).

SONUÇ

Veteriner ve beşerî bilimlerin birbirinin tamamlayıcısı olduğu son zamanlardaki Tek Sağlık yaklaşımıyla daha net ortaya çıkmıştır. Zoonoz etkenlerin evrimsel süreçleri, konağa adapte olması ve bulaş kaynaklarının anlaşılması insan, hayvan ve çevre sağlığını aynı anda etkileyen birden fazla biyolojik, ekolojik ve evrimsel bileşenin etkileşimiyle şekillenir. Zoonoz etkenlerin insanlarda büyük çaplı salgınlara neden olmadan önce rezervuarlarda geçirdikleri evrimin biyoinformatik tabanlı çalışmalarla tespit edilebilmektedir. Bu sayede pandemiler gibi durumlar şekillenmeden önce gerekli önlemler alınabilir. Bu amaçla NGS ve filogenetik analizler ile patojenlerin konaklar arası transfer mekanizmaları belirlenebilir. Bu durum klasik survey çalışmalarından daha anlamlı veriler eldesi sağlar. Ancak bu konudaki en önemli handikap mevcut biyoinformatik uygulamaların

etkinliği, hayvan türlerine özgü bağışıklık yanıtları, MHC çeşitliliği ve çevresel etkileşimler gibi biyolojik parametrelere ilişkin veri eksiklikleri nedeniyle hâlen sınırlı olmasıdır. Bu konuda bir diğerk eksik olan konuda insan, hayvan ve çevre kaynaklı genomik verilerin heterojenite ve standartlaşma eksikliğidir. Bu eksikliklerde salgınların önceden tespit edilip kontrol stratejilerinin geliştirilmesine engel olmaktadır. Bu nedenle, tüm türlere entegre veri toplama stratejilerine ek disiplinler arası verilerin paylaşımının arttırılması gerekmektedir. Veteriner sahada da biyoinformatik tabanlı çalışmalara daha fazla yoğunlaşılması ve desteklenmesi alanın gelişimi açısından önemlidir. AMR konusu geleceğın pandemisi olma potansiyeli taşıması da beşerî ve veteriner hekimliğın birlikte hareket etmesi gerektiğini dolayısıyla Tek Sağık yaklaşımının önemini bir kere daha vurgulamaktadır. Gelişen teknolojiyle birlikte yapay zekâ ve makine öğrenimi tabanlı biyoinformatik araçların genomik, epidemiyolojik ve çevresel verilerle entegre kullanımı zoonozların daha kolay izlenmesini sağlayacaktır. Ayrıca ileri biyoinformatik analizlerin kullanımı sahada çözülmesi zor hastalıklara karşı koruma ve kontrolde önemli rol oynayan daha etkili aşı tasarımlarına olanak sağlayacağı düşünölmektedir.

KAYNAKÇA

- Atlas, R. M. (2012). One Health: its origins and future. *One Health: The Human-Animal-Environment Interfaces in Emerging Infectious Diseases: The Concept and Examples of a One Health Approach*, 1-13.
- Bah, S. Y., Morang'a, C. M., Kengne-Ouafo, J. A., Amenga-Etego, L., & Awandare, G. A. (2018). Highlights on the application of genomics and bioinformatics in the fight against infectious diseases: challenges and opportunities in Africa. *Frontiers in genetics*, 9, 575.
- Catalano, S., Battelli, F., Traore, Z. I., Raghwani, J., Faust, C. L., & Standley, C. J. (2024). Pathogen genomics and One Health: A scoping review of current practices in zoonotic disease research. *IJID One Health*, 4, 100031.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijidoh.2024.100031>
- Coker O.M, Osaiyuwu O.H, & Fatokı A. O. (2023). Major Histocompatibility Complex (MHC) Diversity and its implications in human and wildlife health and Conservation. *Genetics & Biodiversity Journal*, 7(2), 1-11.
<https://doi.org/10.46325/gabj.v7i2.318>
- Destoumieux-Garzón, D., Mavingui, P., Boetsch, G., Boissier, J., Darriet, F., Duboz, P., Fritsch, C., Giraudoux, P., Le Roux, F., Morand, S., Paillard, C., Pontier, D., Sueur, C., & Voituron, Y. (2018). The One Health Concept: 10 Years Old and a Long Road Ahead. *Front Vet Sci*, 5, 14.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00014>

- Didelot, X., Bowden, R., Wilson, D. J., Peto, T. E. A., & Crook, D. W. (2012). Transforming clinical microbiology with bacterial genome sequencing. *Nature Reviews Genetics*, 13(9), 601-612. <https://doi.org/10.1038/nrg3226>
- Djordjevic, S. P., Jarocki, V. M., Seemann, T., Cummins, M. L., Watt, A. E., Drigo, B., Wyrsh, E. R., Reid, C. J., Donner, E., & Howden, B. P. (2024). Genomic surveillance for antimicrobial resistance - a One Health perspective. *Nat Rev Genet*, 25(2), 142-157. <https://doi.org/10.1038/s41576-023-00649-y>
- Escobar, L. E. (2020). Ecological niche modeling: an introduction for veterinarians and epidemiologists. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 519059.
- Feng, Y., Lu, X., Zhao, J., Li, H., Xu, J., Li, Z., Wang, M., Peng, Y., Tian, T., Yuan, G., Zhang, Y., Liu, J., Zhang, M., Zhu La, A. L. T., Qu, G., Mu, Y., Guo, W., Wu, Y., Zhang, Y.,...Kan, B. (2025). Regional antimicrobial resistance gene flow among the One Health sectors in China. *Microbiome*, 13(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s40168-024-01983-x>
- Gardy, J. L., & Loman, N. J. (2018). Towards a genomics-informed, real-time, global pathogen surveillance system. *Nature Reviews Genetics*, 19(1), 9-20. <https://doi.org/10.1038/nrg.2017.88>
- Graham, J. P., Leibler, J. H., Price, L. B., Otte, J. M., Pfeiffer, D. U., Tiensin, T., & Silbergeld, E. K. (2008). The animal-human interface and infectious disease in industrial food animal production: rethinking biosecurity and biocontainment. *Public health reports*, 123(3), 282-299.

- Horefti, E. (2023). The Importance of the One Health Concept in Combating Zoonoses. *Pathogens*, 12(8), 977. <https://www.mdpi.com/2076-0817/12/8/977>
- Institute of Medicine Committee on Emerging Microbial Threats to Health in the 21st, C. (2003). In M. S. Smolinski, M. A. Hamburg, & J. Lederberg (Eds.), *Microbial Threats to Health: Emergence, Detection, and Response*. National Academies Press (US)
- Copyright 2003 by the National Academy of Sciences. All rights reserved. <https://doi.org/10.17226/10636>
- Lawal, O., Babatunde, E. T., Muhammed, I., Okiki, Q. N., Chibueze, E. S., David, V. O., Otabil, C., Agbo, O. S., & Ololade, O. A. (2025). Comparative genomics of zoonotic pathogens: Genetic determinants of host switching and cross-species transmission. *Journal of Clinical Medicine of Kazakhstan*, 22(5), 80-92.
- Libbrecht, M. W., & Noble, W. S. (2015). Machine learning applications in genetics and genomics. *Nature Reviews Genetics*, 16(6), 321-332. <https://doi.org/10.1038/nrg3920>
- Meeusen, E. N., Walker, J., Peters, A., Pastoret, P. P., & Jungersen, G. (2007). Current status of veterinary vaccines. *Clin Microbiol Rev*, 20(3), 489-510, table of contents. <https://doi.org/10.1128/cmr.00005-07>
- Oltean, H. N., Lipton, B., Black, A., Snekvik, K., Haman, K., Buswell, M., Baines, A. E., Rabinowitz, P. M., Russell, S. L., Shadomy, S., Ghai, R. R., Rekant, S., Lindquist, S., & Baseman, J. G. (2025). Developing a one health data integration framework

- focused on real-time pathogen surveillance and applied genomic epidemiology. *One Health Outlook*, 7(1), 9. <https://doi.org/10.1186/s42522-024-00133-5>
- Qiu, Y., Guitian, J., Webster, J. P., Musallam, I., Haider, N., Drewe, J. A., & Song, J. (2023). Global prioritization of endemic zoonotic diseases for conducting surveillance in domestic animals to protect public health. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 378(1887), 20220407. <https://doi.org/10.1098/rstb.2022.0407>
- Robinson, E. R., Walker, T. M., & Pallen, M. J. (2013). Genomics and outbreak investigation: from sequence to consequence. *Genome medicine*, 5(4), 36.
- Scarpa, F., & Casu, M. (2024). Genomics and Bioinformatics in One Health: Transdisciplinary Approaches for Health Promotion and Disease Prevention. *Int J Environ Res Public Health*, 21(10). <https://doi.org/10.3390/ijerph21101337>
- Shaheen, M. N. F. (2022). The concept of one health applied to the problem of zoonotic diseases. *Rev Med Virol*, 32(4), e2326. <https://doi.org/10.1002/rmv.2326>
- Urban, L., Perlas, A., Francino, O., Martí-Carreras, J., Muga, B. A., Mwangi, J. W., Boykin Okalebo, L., Stanton, J. A. L., Black, A., Waipara, N., Fontseré, C., Eccles, D., Urel, H., Reska, T., Morales, H. E., Palmada-Flores, M., Marques-Bonet, T., Watsa, M., Libke, Z.,...van Oosterhout, C. (2023). Real-time genomics for One Health. *Molecular Systems Biology*, 19(8), MSB202311686. <https://doi.org/10.15252/msb.202311686>

- Van Goethem, N., Descamps, T., Devleesschauwer, B., Roosens, N. H. C., Boon, N. A. M., Van Oyen, H., & Robert, A. (2019). Status and potential of bacterial genomics for public health practice: a scoping review. *Implementation Science*, 14(1), 79. <https://doi.org/10.1186/s13012-019-0930-2>
- Wardeh, M., Risley, C., McIntyre, M. K., Setzkorn, C., & Baylis, M. (2015). Database of host-pathogen and related species interactions, and their global distribution. *Sci Data*, 2, 150049. <https://doi.org/10.1038/sdata.2015.49>
- WHO. (2005). Combating Emerging Infectious Diseases in the South East Asia Region. Retrieved 29.01.2026 from http://www.searo.who.int/entity/emerging_diseases/documents/SEA_CD_139/en/index.html.

BÖLÜM 3

H&E BOYAMA HATALARININ DERİN ÖĞRENME YÖNTEMİ İLE ANALİZİ VE DİJİTAL RESTORASYONU

Osman Fatih KOPARIR

Doç. Dr. Çetin GENÇER

Prof. Dr. Berrin TARAKÇI GENÇER

GİRİŞ

Histopatoloji, uzun zamandır hastalık teşhisi ve bu alandaki bilimsel araştırmalar için kesin yöntem olarak kabul edilmektedir. Bir asırdan fazla bir süredir, Hematoksilin ve Eozin (H&E) boyama tekniği, doku mimarisini ve hücre morfolojisini görselleştirmek için gerekli temel kontrastı sağlayarak bu alanda "altın standart" olarak hizmet vermiştir (Alturkistani vd., 2016). 19. yüzyılın sonlarındaki standardizasyonundan bu yana, H&E, çekirdekler gibi bazofilik yapıları sitoplazma ve bağ doku gibi asidofilik bileşenlerden etkili bir şekilde ayırt edebilmesi nedeniyle birincil tanı aracı olmaya devam etmiştir (Titford, 2005a). Gelişmiş moleküler tekniklerin ortaya çıkmasına rağmen, H&E ile boyanmış dokuların sağladığı morfolojik değerlendirme, histopatolojik değerlendirmenin temel taşı olmaya devam etmektedir.

Ancak, histolojik slaytların hazırlanması, doku fiksasyonu, işlenmesi, kesit alınması ve boyanmasını içeren karmaşık ve çok adımlı

bir süreçtir. Bu süreç, birbirine bağımlı unsurlar barındırmasından dolayı artefakt olarak adlandırılan hatalara karşı oldukça hassastır. Bu artefaktlar, otolize yol açan uygunsuz fiksasyon gibi analiz öncesi faktörlerden veya boyama protokollerindeki, reaktif konsantrasyonlarındaki ve çevresel koşullardaki farklılıklar gibi analitik faktörlerden kaynaklanabilir (Chatterjee, 2014). Doku katlanması, bıçak izleri, hava kabarcıkları (Şekil 10) ve aynı tür örneklerin farklı zamanlarda, farklı cihazlarda, veya farklı laboratuvarlarda işlenmesinden kaynaklı belirgin renk farklılıkları gibi yaygın sorunlar, yalnızca numunenin görsel kalitesini düşürmekle kalmaz, aynı zamanda patologlar için potansiyel tanısal tuzaklar da oluşturur (Rastogi vd., 2013).

Dijital Patoloji ve Tüm Slayt Görüntüleme (WSI) teknolojilerinin ortaya çıkmasıyla birlikte, geleneksel mikroskopiden yüksek çözünürlüklü dijital görselleştirmeye doğru bir paradigma değişimi yaşanmaktadır (Pantanowitz vd., 2018a). Dijitalleştirme, telepatoloji, eğitim ve otomatik görüntü analizi için muazzam fırsatlar sunarken, aynı zamanda boyama hatalarının etkisini de artırmaktadır. Hesaplamalı Patoloji bağlamında, boyama artefaktları ve renk farklılıkları - "alan kayması" sorunu olarak bilinir - kritik engeller haline gelmektedir. Yapay Zeka (YZ) modelleri, özellikle makine öğrenimine dayalı olanlar, bu değişikliklere karşı oldukça hassastır; bir laboratuvaradan alınan yüksek kaliteli verilerle eğitilen bir model, tutarsız boyama özellikleri nedeniyle genellikle başka bir laboratuvaradan alınan verilere genelleme yapamaz (Zarella vd., 2019).

Bu zorlukların üstesinden gelmek için, Derin Öğrenme (DL) yöntemleri son zamanlarda hem artefaktların tespiti hem de histolojik görüntülerin standardizasyonu için güçlü araçlar olarak ortaya çıkmıştır. Otomatik kalite kontrolü için Evrişimli Sinir Ağları (CNN'ler) ve boyama normalizasyonu için Üretken Çelişkili Ağlar (GAN'lar) gibi gelişmiş dijital mimariler, histopatolojik görüntülerdeki artefaktları düzeltmek ve standardize etmek için yeni yaklaşımlar sunmaktadır (Salvi vd., 2020a). Bu seminer, H&E boyama hatalarının kapsamlı bir analizini sunmayı, geleneksel yöntemlerin sınırlamalarını incelemeyi ve dijital histopatolojinin güvenilirliğini artırmada en son derin öğrenme yaklaşımlarının etkinliğini değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

TARİHSEL VE TEKNİK PERSPEKTİF: H&E BOYAMA

Hematoksilin ve Eosin'in Tarihçesi ve Gelişimi

Hematoksilin, dünya genelindeki laboratuvarlarda mikroskop lamı preparatlarında çekirdekleri boyamak için kullanılan ve doğal olarak oluşan bir kimyasaldır. Bu kimyasal, Hematoxylon campechianum adlı kütük ağacından elde edilir ve 1502 yılında Yucatan'a gelen İspanyol kâşifler tarafından keşfedilmiştir (Kahr vd., 1998). Avrupa'da kumaş boyamada kullanılmak üzere hematoksilin yetiştirilmesi ve hazırlanmasıyla ilgili olarak kısa sürede yoğun bir ticaret gelişmiştir. 1800'lerin ortalarında, amatör mikroskopistler hücrel bileşenleri boyamak için ilk olarak hematoksilin kullandılar. Daha sonra bilim insanları, farklı hücrel bileşenleri göstermek için

çok çeşitli teknikler geliştirdiler. Hematoksilin, histolojide en popüler nükleer boya olmaya devam etmektedir (Titford, 2005b).

Eozin boyasının tarihsel gelişimine bakıldığında ilk olarak 1874 yılında Badische Anilin- und Soda-Fabrik (BASF) şirketinde çalışan Alman kimyager Heinrich Caro tarafından sentezlenmiştir (Kay, 2015). Bu boya, floresanın bromlanmasıyla üretilir ve dokulardaki bazik (alkali) proteinleri pembe veya kırmızıya yakın bir renge boyamasına olanak tanıyan asidik yapısı ile karakterizedir (Francis vd., 2022).“Eozin” adı, pembe rengini yansıtan Yunan şafak tanrıçası “Eos”tan türemiştir. Eozin, kumaş boyası olarak dönemin ticaret anlayışında çok kısa bir sürede başarı kazanmıştır ve kısa süre sonra biyolojik boyama için de kullanılmaya başlanmıştır (Francis vd., 2022; Kay, 2015). Tarih 1876 yılını gösterdiğinde, eozin, Hematoksilin tercih edilen asidik kontrast boyası olarak kabul edilmiştir ve rutin histolojik inceleme için günümüzde de altın standart olmaya devam eden Hematoksilin ve eozin (H&E) boyasını oluşturmuştur (Gill, 2013; “H01”, 2021). Boyama tekniklerinde öncü olan Paul Ehrlich, eozin ile afinitesi olan granüllü hücreleri tanımlamak için “eozinofil” terimini kullanarak, eozinin histolojideki rolünü daha da sağlamlaştırmıştır (Kay, 2015). H&E boyasının çekirdekler (mavi, hematoksilinden) ve sitoplazma/hücre dışı matriks (pembe/kırmızı, eozinden) arasında net bir kontrast sağlama özelliği, dokunun morfolojik yapısını görselleştirme ve histopatolojik tanıda devrim yaratmıştır (Dibal vd., 2022; Fischer vd., 2008).

H&E Boyamanın Kimyasal Prensipleri ve Etki Mekanizması

Hematoksilin ve Eozin (H&E) boyama, hücre çekirdekleri ile sitoplazmik/hücre dışı bileşenler arasındaki etkileşim mekanizması ile net bir kontrast sağlar. Bu mekanizma, iki boyanın kimyasal etkileşimine dayanır: Hematoksilin (bazik boya) ve eozin (asidik boya), her biri yük ve afinitelerine göre farklı doku yapılarına bağlanır.

Hematoksilin başlangıçta renksizdir ve aktif formu olan hematine oksitlenmelidir. Hematin, genellikle alüminyum veya demir gibi metal iyonları (mordanlar) ile kompleksler (boya gölleri) oluşturur ve bu da onun negatif yüklü (bazofilik) doku bileşenlerine, özellikle hücre çekirdeğindeki nükleik asitlere güçlü bir şekilde bağlanmasını sağlar. Ortaya çıkan renk, alüminyum-hematin için mavi-mor ve demir-hematin kompleksleri için siyahtır (Larson vd., 2011a; Llewellyn, 2009).

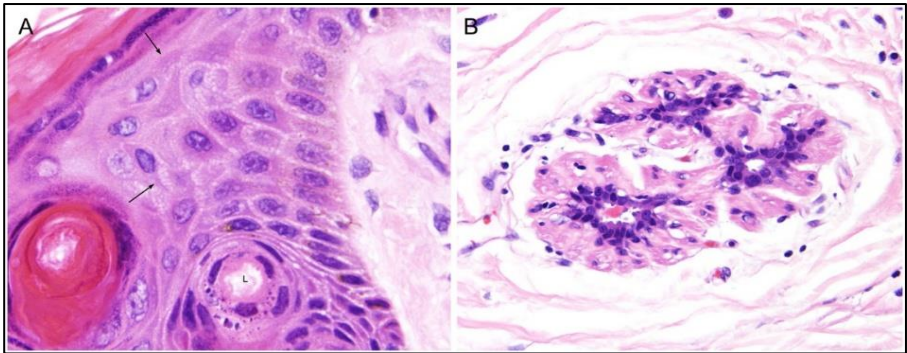
Eozin, sitoplazmik proteinler ve hücre dışı matriks gibi pozitif yüklü (asidofilik) bileşenlere bağlanan ve bunları pembe ile kırmızı renge boyayan asidik (anyonik) bir boyadır (Ortiz-Hidalgo & Pina-Oviedo, 2019).

Hematoksilin (hematein-mordant kompleksi olarak), elektrostatik etkileşimler yoluyla nükleik asitlerin ve asidik nükleer proteinlerin fosfat gruplarına bağlanarak nükleer morfolojiyi ve kromatin detaylarını vurgular (Maciulis vd., 2025).

Eosin, sitoplazmadaki ve hücre dışı matristeki bazik (pozitif yüklü) proteinlere spesifik olmayan bir şekilde bağlanarak nükleer boyaya kontrast sağlar (Ortiz-Hidalgo & Pina-Oviedo, 2019).

Bu boyaların ardışık uygulanması, doku bileşenlerinin asit-baz özelliklerinden yararlanarak çekirdekler (bazofilik, mavi) ve sitoplazma/ekstrasellüler matriks (asidofilik, pembe) arasında net bir ayrım sağlar (Şekil 1) (Larson vd., 2011a).

Boya moleküllerinin doku yapılarıyla hizalanması ve etkileşimi, polarimetrik ve floresans çalışmalarıyla gösterildiği gibi görüntüleme özelliklerini de etkileyebilir (Langenbacher vd., 2023).



Şekil 1. Hematoksilin-eozin (H&E) ile boyanmış histolojik kesitteki renkler ve hücresel detaylar. (A) Bu deri örneğinde, tek tek skuamöz hücreler arasında hücreler arası köprüler görülmektedir. Bazı hücrelerde sitoplazmik fibriller (sitokeratin) de belirgindir (oklar). Farklı yapılarıdaki pembe boyamanın farklı yoğunluk ve tonlarına dikkat edin, koyudan açığa doğru: keratin, ter kanalının lümen kütikülü (L), epidermal hücrelerin sitoplazması ve kollajen. (B) Miyoeptelyumun miyoid metaplazisini gösteren bir meme lobülü. Metaplastik miyoeptelyumun sitoplazması, kas hücreleri gibi koyu pembe boyama gösterir ve çevredeki kollajen liflerinden daha koyudur.(Chan, 2014)

Rutin Histopatolojideki Yeri ve Önemi

H&E boyaması, çekirdekleri (hematoksilin ile mavi/mor) ve sitoplazmayı/hücre dışı matrisi (eozin ile pembe/kırmızı) belirgin şekilde renklendirerek patoloğların ve histoloğların dokunun hücrel bileşenlerini kolayca ayırt etmelerini sağlar (Feldman & Wolfe, 2014). Bu boyama, incelenen dokudaki normal ve anormal özelliklerin hızlı bir şekilde tanınmasını sağlayarak, tümör tanımlama ve evreleme dahil olmak üzere çoğu rutin histopatolojik incelemede tanıyı desteklemekle beraber dokunun normal hücrel organizasyonlarını da ortaya koyar (P.-W. Huang vd., 2023). H&E protokolü nispeten basit, uygun maliyetli, hızlı bir şekilde gerçekleştirilebilir ve kolay ulaşılabilir olması sebebiyle laboratuvar iş akışları için uygundur (de Haan vd., 2021). H&E boyalı slaytlar stabildir, uzun süre saklanabilir ve farklı patoloğlar ve histoloğlar tarafından kolayca incelenebilir, bu da kalite güvencesini ve retrospektif analizi destekler (Dunn vd., 2025). H&E boyama, dünya çapında histopatoloji slaytlarının %80'inden fazlasında kullanılır ve patoloğ eğitiminin ve tanı kriterlerinin temelini oluşturur (Soyab, 2020). H&E genel morfoloji için oldukça etkili olsa da, tüm doku bileşenlerini veya spesifik hastalık belirteçlerini tanımlayamayabilir ve bazı durumlarda özel boyalar veya immünohistokimyasal analiz gerektirebilir (L. Li vd., 2025; Mebratie & Dagnaw, 2024). Yeni görüntüleme ve boyama teknolojileri gelişmeye devam etse de H&E boyama, karşılaştırma ve doğrulama için referans standart olmaya devam etmektedir (Freudiger vd., 2012; Tehrani vd., 2023).

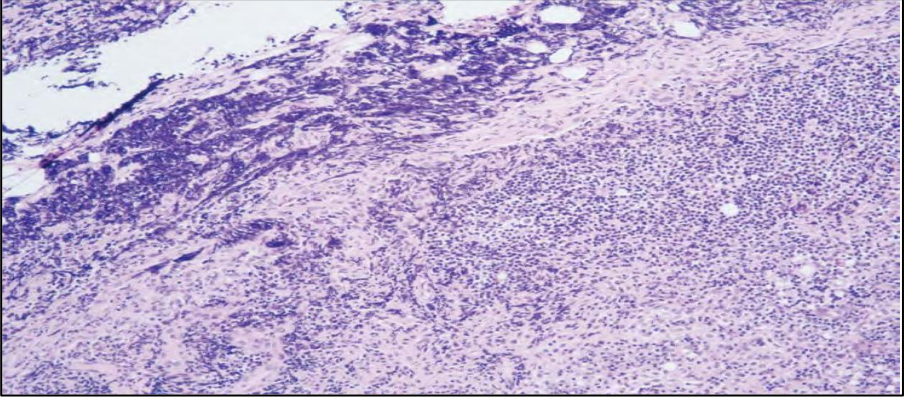
HİSTOPATOLOJİK ARTEFAKTLAR VE BOYAMA HATALARI

Pre-Analitik (Hazırlık Aşaması) Kaynaklı Artefaktlar

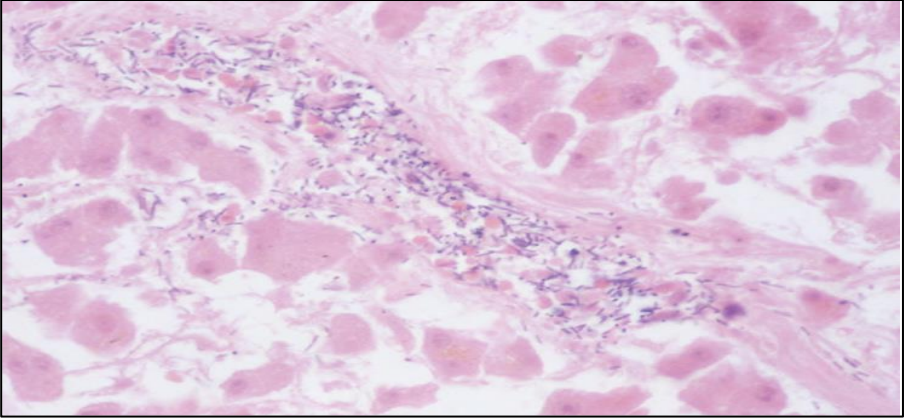
Histopatolojide en sık görülen pre-analitik artefaktlar, etiketleme hataları, fiksasyon sorunları ve doku işleme artefaktlarıdır; bunlar esas olarak uygunsuz numune işleme, yetersiz fiksasyon ve kötü biyopsi tekniğinden kaynaklanır (Şekil 5).

Histopatolojide pre-analitik artefaktlar, numune işlemenin ilk aşamalarından önce veya sırasında ortaya çıkar ve tanı doğruluğunu önemli ölçüde tehlikeye atabilir. En yaygın türleri ve nedenleri şunlardır: yanlış etiketlenmiş veya etiketlenmemiş numuneler sık görülür ve ciddi tanı hatalarına yol açabilir. Nedenleri arasında, genellikle numune toplama ve gönderme sırasında standartlaştırılmış protokollerin veya denetimin eksikliğinden kaynaklanan, kapların ve talep formlarının eksik veya yanlış etiketlenmesi yer alır (Baqui vd., 2013; Rao vd., 2016).

Uygunsuz biyopsi tekniği, forsepsle aşırı kuvvet uygulanması veya kaba işlem nedeniyle dokuda ezilme, yırtılma ve kıvrılma meydana gelir (Şekil 2). Bunlar histopatolojik değişiklikleri taklit edebilir ve tanıyı zorlaştırabilir (Babu1 vd., 2020; Taqi vd., 2018).

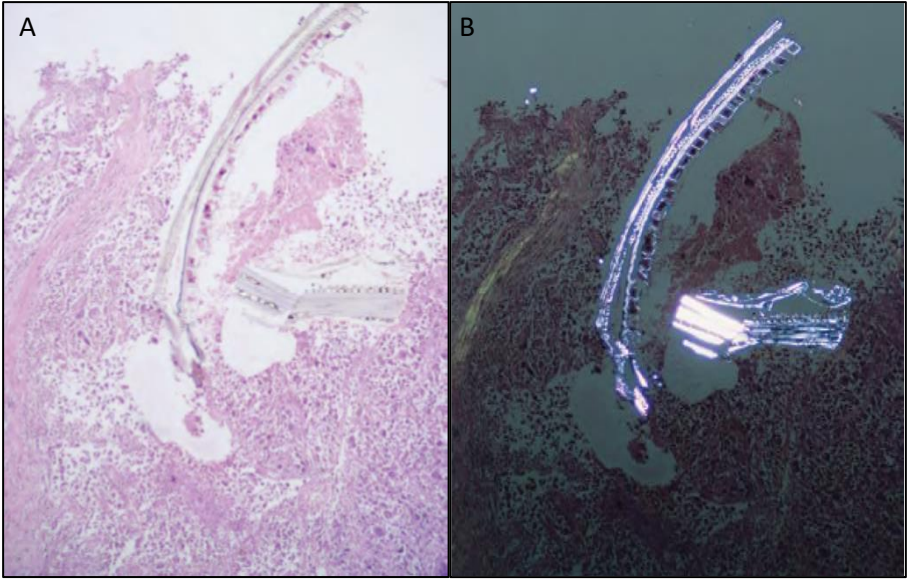


Şekil 2. Lenf düğümünün bir kesitinde ezilme artefaktı. H&E (Rolls, t.y.-a).



Şekil 3. Yetersiz fiksasyon kaynaklı otolizin karakteristik özellikleri olan belirsiz çekirdekler ve kesin olmayan sitoplazmik boyama görülmektedir; H&E.(Rolls, t.y.-a)

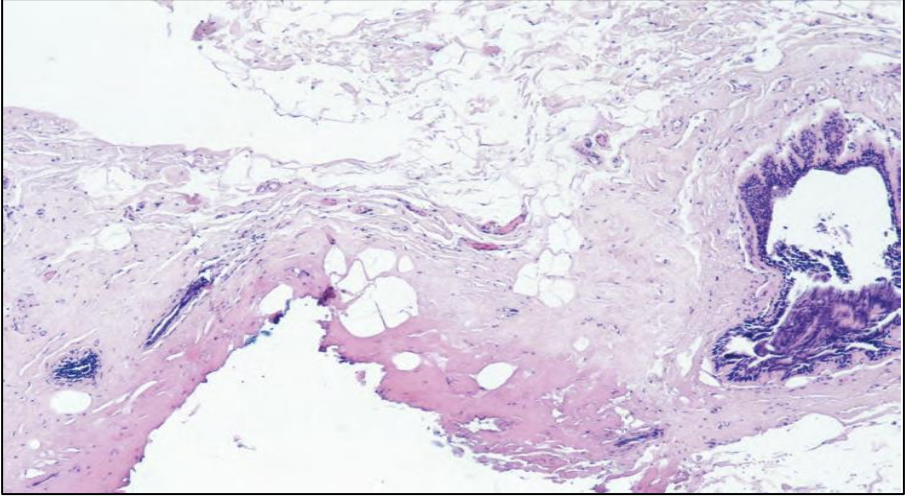
Toplama veya işleme sırasında yabancı maddelerle (örneğin, eldivenlerden gelen nişasta, pamuk lifleri) kontaminasyon meydana gelebilir ve bu da tanısal karışıklığa yol açabilir (Şekil 4) (Zargaran, 2019).



Şekil 4. Bağırsak tümörünün H&E boyalı kesitinde selüloz kontaminasyonu.

A: Parlak alan. B: Polarize ışık (Rolls, t.y.-b).

Yetersiz veya gecikmiş fiksasyon (az fiksasyon veya aşırı fiksasyon), yetersiz koruma, doku otolizi veya aşırı sertleşmeye neden olur. Nedenleri arasında yetersiz fiksatif hacmi, gecikmiş daldırma veya uygun olmayan fiksatiflerin kullanımı yer alır (Şekil 3). Formalin pigment birikimi ve doku büzülmesi, uygunsuz fiksasyon protokollerinde yaygındır (Krishnanand vd., 2010; Taqi vd., 2018). Büyük veya kalın doku örnekleri düzgün bir şekilde fikse edilemeyebilir, bu da eksik korumaya ve artefaktlara yol açabilir. Uygun lamellasyon (ince dilimleme), optimum fiksasyon için gereklidir (Kurniawaty vd., 2024).



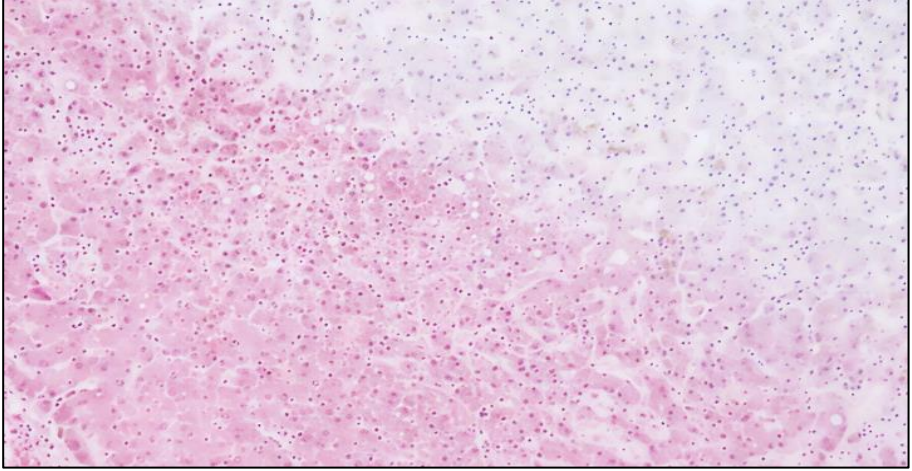
Şekil 5. Meme biyopsisinde örnek alınması sırasında lazer bıçağı kullanılmıştır. Isı hasarı görmüş dokunun tipik asidofilik özelliği görülebilirken, bitişik bez dokusu büyük ölçüde etkilenmemiştir; H&E boyama (Rolls, t.y.-a).

Analitik (Boyama Aşaması) Kaynaklı Artefaktlar

Analitik aşamada H&E boyama artefaktlarının yaygın nedenleri arasında boyama, doku işleme ve reaktif yönetimindeki teknik hatalar yer alır ve bu da renk varyasyonuna, düzensiz boyamaya ve fiziksel artefaktlara yol açar. H&E boyama artefaktlarının başlıca nedenleri şunlardır: tutarsız boyama süreleri, reaktif konsantrasyonları ve pH, renk varyasyonuna ve düzensiz boyamaya neden olarak tanı doğruluğunu etkileyebilir (Azevedo Tosta vd., 2019a; Fabi vd., 2022; Kim vd., 2023).

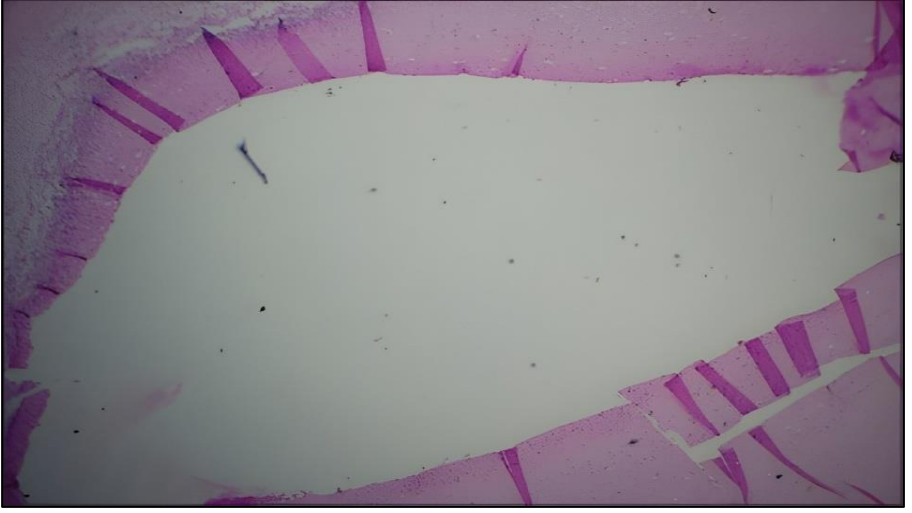
Reaktiflerin (özellikle eozin) aşırı kullanımı veya bozulması, boyama yoğunluğunun azalmasına ve optimum olmayan kontrasta yol açar (Benton vd., 2025; Larson vd., 2011b).

Uygunsuz farklılaştırma ve dehidrasyon adımları (örneğin, yanlış alkol konsantrasyonu veya eksik dehidrasyon), zayıf renk ayırımına, aşırı pembe veya mavi tonlarına ve lam altında bulanıklık veya boncuklanma gibi su artefaktlarına neden olabilir (Wynnchuk, 1990).



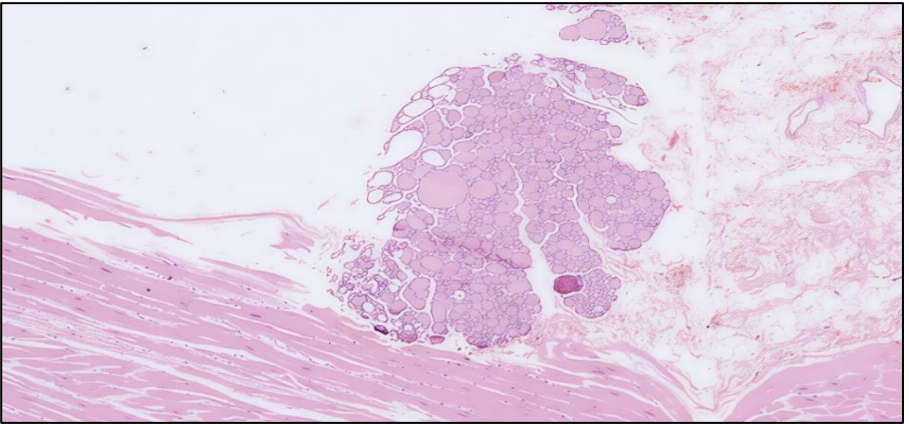
Şekil 6. Doğrusal boyama cihazında boyanmış bir karaciğer kesiti, hematoksin boyamasının genel olarak tatmin edici olduğunu, ancak kesitin bir ucunda eozin boyasının bulunmadığını göstermektedir. Bu durum, kaptaki eozin miktarının yetersiz olmasından kaynaklanmaktadır.(Rolls, t.y.-a)

Doku kalınlığı varyasyonu, renk artefaktlarının önemli bir kaynağıdır; Daha kalın kesitler daha fazla boya emer ve bu da daha koyu lekelenmeye neden olur. Katlanma artefaktları (kesit katlanmaları veya kırışıklıkları) en yaygın fiziksel artefaktır ve genellikle kötü kesit alma veya montaj tekniğinden kaynaklanır (Kim vd., 2023; Prezja vd., 2022; Satapute vd., 2020).



Şekil 7. Histopatolojik görüntü, forsepsle yapılan sert müdahale nedeniyle oluşan doku yırtılmalarını ve kıvrımlarını göstermektedir: H&E boyama (Taqi vd., 2018).

Kontaminasyon veya eksik temizleme (örneğin, yetersiz temizlemeden kaynaklanan artık su veya nemli ortamlar) düzensiz lekelenmeye ve farklı doku bulaşlarına sebep olabilir (Şekil 8). (Larson vd., 2011b; Wynnchuk, 1990).



Şekil 8. Kalp kasının bir bölümünde, bir yüzeyine yabancı bir tiroid dokusu parçasının yapışması; H&E boyama.(Rolls, t.y.-a)

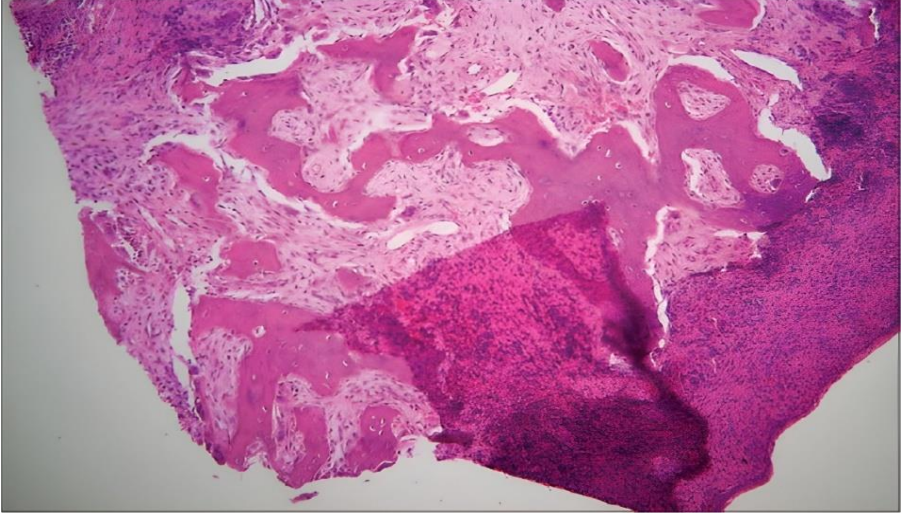
Ekipman arızası veya kontamine reaktifler beklenmedik artefaktlara neden olabilir ve bu da kalite güvencesinin gerekliliğini vurgular (Şekil 6) (Wick, 2019). Laboratuvarlar arası ve laboratuvar içi protokol, ekipman kalibrasyonu ve operatör tekniğindeki değişkenlik, parti etkilerine ve tutarsız boyama sonuçlarına sebep ve görüntü yakalama sistemleri ve dijitalleştirme, renk kaymalarına veya artefaktlara neden olarak hesaplamalı analizi karmaşıktırabilir (Azevedo Tosta vd., 2019a; Zarella vd., 2015).

Post-Analitik (Görüntüleme) Kaynaklı Artefaktlar

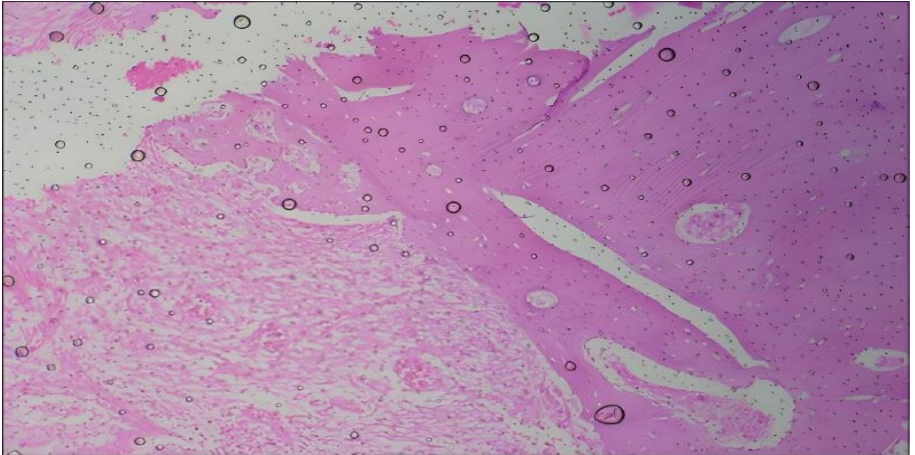
H&E boyalı slaytlarda sık görülen post-analitik artefaktlar arasında, vakaların %40'ından fazlasında görülen ve doku morfolojisini bozarak tanıyı zorlaştırabilen katlanma artefaktları yer almaktadır (Şekil 7) (Şekil 9) (Satapute vd., 2020). Diğer sık görülen artefaktlar arasında, düzgün bir şekilde çıkarılmadığı takdirde görüntü analizini etkileyebilecek slaytlar üzerindeki kalem izleri ve montaj yani kapatma sırasında oluşan artefaktlardır. (Şekil 11) (Schreiber vd., 2024).

Fiksasyon süresi, fiksatif türü ve doku kesiti kalınlığı gibi pre-analitik faktörlerden kaynaklanan boyama kalitesindeki varyasyonlar da nihai H&E boyama görünümünü etkiler ve yorumlamayı etkileyen artefaktlar olarak kabul edilebilir (Babic vd., 2010). Çoklu immüno floresans iş akışlarında kullanılan ısıya bağlı epitop geri kazanımı, H&E boyama desenlerini değiştirebilir ve doku mikro yapılarının çözülmesinde zorluklara yol açabilir (Hwang vd., 2024). Boyama protokollerindeki ve dijitalleştirme sistemlerindeki farklılıklardan kaynaklanan renk varyasyonları, hesaplamalı analizi etkileyen artefaktlar oluşturabilir,

ancak normalleştirme yöntemleri biyolojik özellikleri değiştirmeden bunları en aza indirmeyi amaçlar (Azevedo Tosta vd., 2019b; Bianconi vd., 2020).

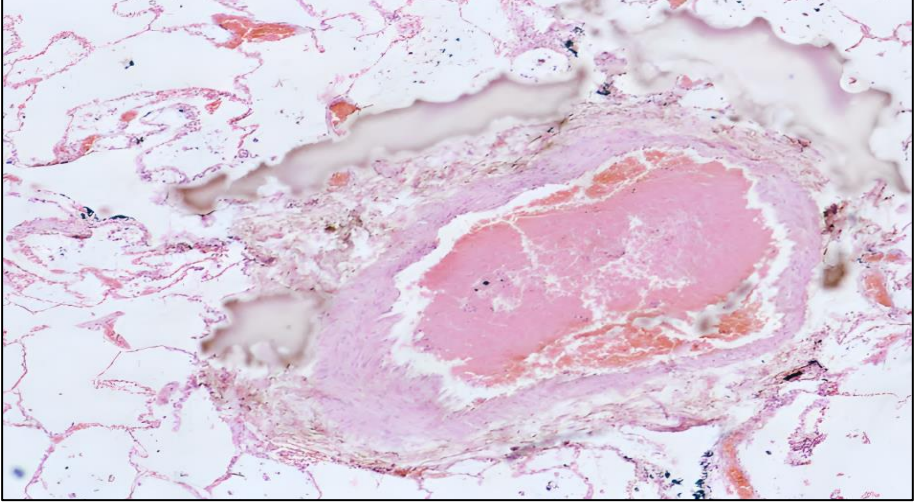


Şekil 9. Histopatolojik görüntü, dokunun katlanmasından kaynaklanan kıvrılma artefaktını göstermektedir (H&E, ×10)(Taqi vd., 2018)



Şekil 10. H&E görüntüsünde, hava kabarcıkları görülmektedir.(Taqi vd., 2018)

Genel olarak, artefaktlar teknik işlemlerden kaynaklanır, Boyama, tarama ve görüntü işleme adımları ile dikkatli standardizasyon ve artefakt giderme, doğru histopatolojik değerlendirme için elzemdir (Hwang vd., 2024; Satapute vd., 2020; Schreiber vd., 2024).



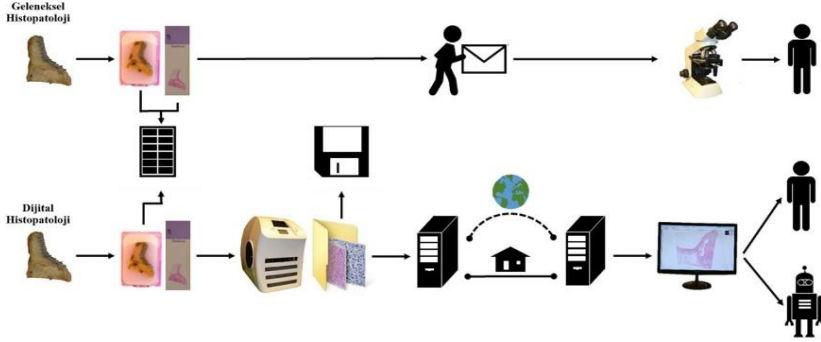
Şekil 11. Kapatma sırasında yapışkan artefaktının görüntüleme sırasında oluşturduğu sorun; H&E boyama (Rolls, t.y.-b)

DİJİTAL HİSTOPATOLOJİYE GEÇİŞ

Geleneksel Mikroskopiden Sanal Mikroskopiye Evrim

Histopatolojinin evrimi, 19. yüzyıldan beri temel taşı olan geleneksel ışık mikroskobundan, gelişmiş dijital patolojiye ve sanal mikroskoba doğru ilerlemiştir. Başlangıçta, patologlar ve histologlar boyanmış doku slaytlarını incelemek için optik mikroskoplara güveniyorlardı; bu uygulama bir yüzyıldan fazla bir süre büyük ölçüde değişmeden kaldı (Bertram & Klopfleisch, 2017; Luong, 2020). 1990'ların sonlarında, tüm cam slaytların dijitalleştirilmesini sağlayan ve mikroskoplara olan fiziksel bağımlılığı ortadan kaldırarak uzaktan

görüntüleme ve analize olanak tanıyan Tüm Slayt Görüntüleme (WSI) ortaya çıktı (Pantanowitz vd., 2018b).



Şekil 12. Dijital histopatoloji ve geleneksel iş akışının karşılaştırılması.

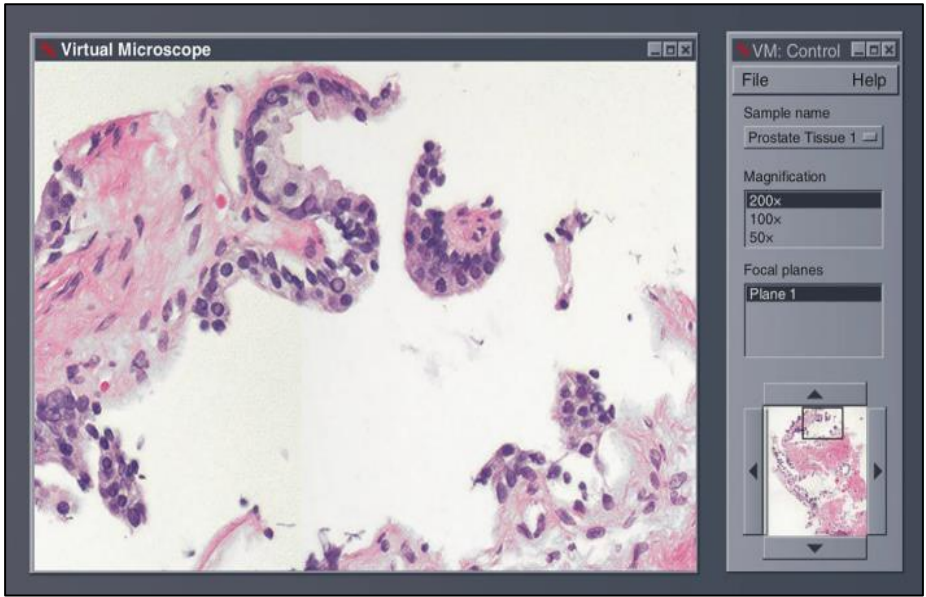
Dijital histopatolojiyi klasik histopatolojiden ayıran iş akışındaki temel adım, histolojik kesitlerin bir slayt tarayıcı ile tüm slayt görüntülerine dijitalleştirilmesidir; bu görüntüler daha sonra bir patolog veya histolog tarafından bilgisayarlı bir iş istasyonunda yönetilebilir ve görüntülenebilir (etkileşimli sanal mikroskopi) veya otomatik görüntü analizi ile değerlendirilebilir.(Bertram & Klopfleisch, 2017)

Dijital hispatoloji, özellikle artan hastalık yükleri ve işgücü kıtlığı ortamında, tanı doğruluğunu, iş akışı verimliliğini ve erişilebilirliği artırmak için yüksek çözünürlüklü sanal slaytları yapay zeka (YZ) dahil olmak üzere hesaplama araçlarıyla entegre eder (Gupta vd., 2022; Iqbal vd., 2025). Klinik çalışmalar, dijital hispatolojinin geleneksel mikroskopiye benzer tanısal uyum sağladığını ve telepatoloji, iyileştirilmiş vaka paylaşımı ve YZ destekli tanı potansiyeli gibi ek faydalar sağladığını göstermiştir. Dijital platformlara geçiş aynı zamanda eğitim, araştırma ve çok disiplinli işbirliğini destekleyerek histopatolojiyi daha verimli, ölçeklenebilir ve veri açısından zengin bir

disipline dönüştüren bir paradigma değişimini işaret etmektedir (Ancheta vd., 2024; Bhargava & Madabhushi, 2016).

Tüm Slayt Görüntüleme (WSI - Whole Slide Imaging) Teknolojisi

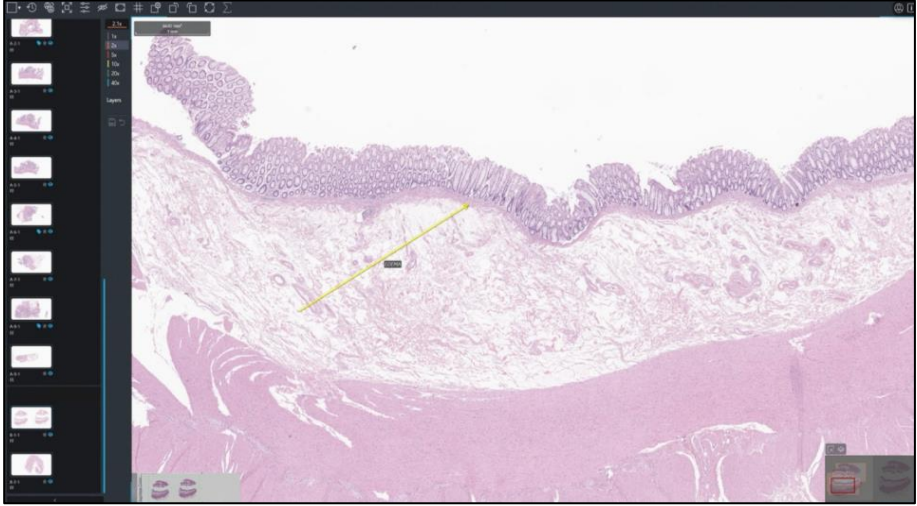
Dijital hispatolojide tüm slayt görüntüleme teknolojisi (WSI), doku örneklerinin hızlı ve ayrıntılı bir şekilde görselleştirilmesini sağlayan, neredeyse optik çözünürlükte tüm cam slaytların dijitalleştirilmesini içerir. Bu teknoloji, sitometrik ve çoklu antikor boyama gibi gelişmiş analizler için hesaplama algoritmalarıyla entegrasyonu kolaylaştırarak hem araştırma hem de klinik tanılama yeteneklerini geliştirmektedir (Blom vd., 2017; Ghaznavi vd., 2013).



Şekil 13. Johns Hopkins/Maryland Üniversitesi'nin ilk "Sanal Mikroskop" tüm slayt görüntüleme istemcisinin ekran görüntüsü. (Pantanowitz vd., 2018b)

Klinik olarak, WSI, cerrahi patolojide birincil tanı için başarısının geleneksel mikroskopiye göre daha düşük olmadığı doğrulanmış olup,

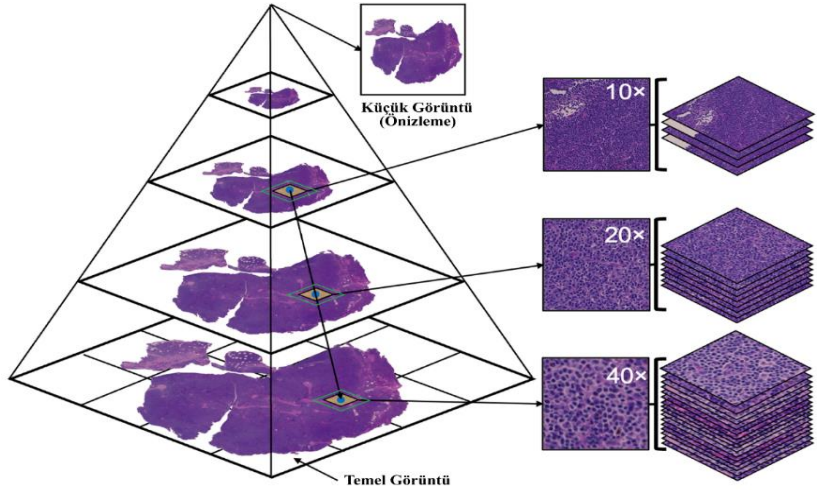
karşılaştırılabilir doğruluk ve verimlilik göstermiş ve rutin uygulamada benimsenmesini destekleyen düzenleyici onaylar almıştır (Kumar vd., 2020; Wharton vd., 2025).



Şekil 14. WSI analizi için dijital ortam. Dijital cam tutucu sol tarafta gösterilmiştir. Dijital slayt ve görüntülenen WSI kısmı sağ altta gösterilmiştir (Pigaiani vd., 2025).

WSI teknik özelliklerine bakıldığında dört ardışık işlem içerir: görüntü yakalama, depolama, işleme ve görselleştirme. Görüntü yakalama için gerekli cihazın donanım bileşenleri iki sistemden oluşur: görüntü yakalama ve görüntü görüntüleme. Görüntü yakalama, temelde aydınlatma yoğunluğunun robotik kontrolü, mekanik tabla, objektifler ve kaba ve ince odaklama olanaklarına sahip ve yüksek çözünürlüklü bir kamera ile donatılmış üç gözlü bir mikroskop olan dijital bir tarayıcı tarafından gerçekleştirilir (Bueno vd., 2014).

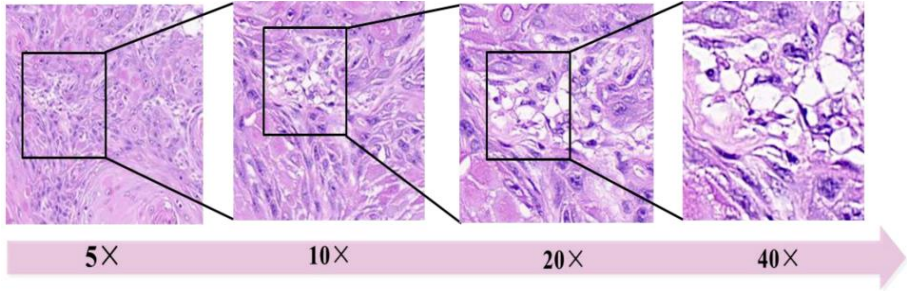
Durağan mikroskobik görüntülerin aksine, WSI tarayıcıları ardışık görüntüleri ya piksel ya da satır tarama yöntemiyle yakalar ve bunlar daha sonra bir VS'ye, cam slaytın tam bir kopyasına monte edilir veya dikilir (Indu vd., 2016). Cerrahi patoloji için, kesit kalınlığı, kesitin slaytın ortasına, örtücü cam kenarlarından uzağa yerleştirilmesi, mikrotomi veya montaj artefaktlarından kaçınma optimize edilmelidir (Wright vd., 2013). Kalın slaytlar veya kırık slaytlar otomatik olarak taranmayabilir, çünkü çoğu tarayıcı yalnızca tek slayt kalınlığındaki yığınları kabul eder.



Şekil 15. Tüm slayt görüntüsü (WSI) dosya yapısı. WSI'lar genellikle piramit şeklinde saklanır; her piramit seviyesi farklı bir yakınlaştırma seviyesini temsil ederken, taban seviyesi dosyanın tam çözünürlüğünü gösterir. WSI görüş alanı, WSI piramidinde istenen belirli bir alanı gösterir (siyah kutu). Görüntü piramidinde 'yukarı' doğru ilerledikçe, seviyeler daha düşük çözünürlüklü görüntüler oluşturmak için alt örneklemeye tabi tutulur; en düşük çözünürlük tepede, en yüksek çözünürlük ise tabanda bulunur. Kesintisiz bir görüntüleme deneyimi sağlamak için, bazı WSI görüntüleyici yazılımları, kullanıcının bir sonraki bakacağı yeri tahmin etmek amacıyla bitişik kareleri önceden yükleyebilir (yeşil kutu). (McClintock vd., 2021).

WSI, öğrenenlere kendi hızlarında etkileşim kurma esnekliği, normal ve anormal görüntüleri aynı ekranda bile karşılaştırma ve ekip tabanlı öğrenme ruhunu geliştirme gibi birçok fayda sunmaktadır. WSI koleksiyonları ayrıca patoloji sınavları ve yeterlilik testleri için de kullanılabilir. Örneğin, Amerikan Patoloji Kurulu, bilgisayar tabanlı bir patoloji sınavında 90 sanal slayt kullanmıştır (“Primary Exam Descriptions”, t.y.).

Genel olarak, WSI, tanısal hassasiyeti, iş akışı verimliliğini ve araştırma yeteneklerini geliştirmek için yüksek çözünürlüklü görüntülemeyi hesaplama araçlarıyla birleştirerek histopatolojide dönüştürücü bir değişimi temsil etmektedir

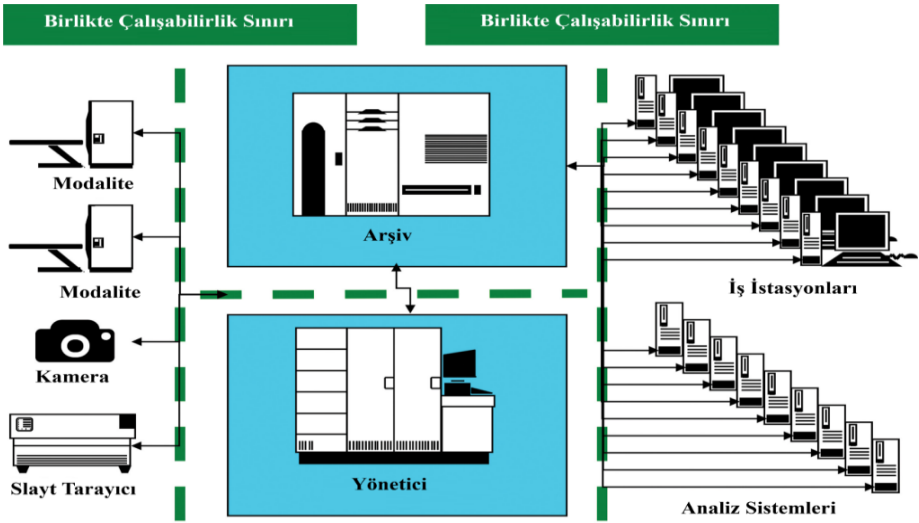


Şekil 16. WSI görüntülerinin farklı büyütme oranları (soldan sağa 5×, 10×, 20× ve 40×)(Yang vd., 2023)

Yaygın uygulamaya yönelik zorluklar arasında yüksek maliyetler, teknik karmaşıklıklar ve mesleki direnç yer almaktadır, ancak tarayıcı teknolojisi, görüntü analiz yazılımı ve yapay zeka entegrasyonundaki devam eden gelişmeler bu engellerin üstesinden gelmektedir (H. Xu vd., 2024).

Dijital Patolojide Veri Standardizasyonu Sorunu

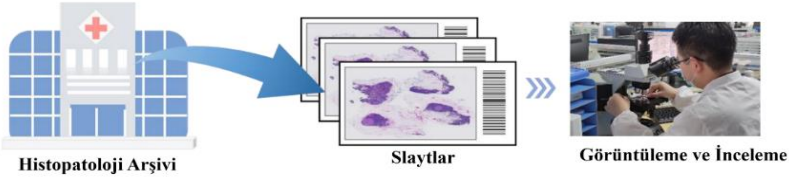
Dijital patoloji iş akışlarında veri standardizasyonu, birlikte çalışabilirlik, veri kalitesi ve klinik benimsemeyi etkileyen çeşitli önemli zorluklarla karşı karşıyadır. Başlıca sorunlardan biri, ölçeklenebilirliği ve sorunsuz veri alışverişini engelleyen tescilli veri formatlarının ve kapalı satıcı platformlarının yaygınlığıdır; tüm slayt görüntüleme (WSI) için Tıpta Dijital Görüntüleme ve İletişim (DICOM) gibi evrensel standartların benimsenmesi şarttır ancak yavaş ilerlemektedir (Clunie, 2021; Romanchikova vd., 2022). Mevcut sistemlerle entegrasyon zorlukları, mali kısıtlamalar ve patologlar arasında değişime karşı direnç, standardizasyon çabalarını daha da karmaşık hale getirmektedir (Bazyleva vd., 2025; Pozdnyakova, t.y.).



Şekil 17. Tüm slayt görüntüleme (WSI) bileşenleri arasındaki birlikte çalışabilirlik sınırlarının basit bir modeli (Clunie, 2021; Romanchikova vd., 2022).

Standartlaştırılmış iş akışlarının ve ölçüm biliminin eksikliği, örnek işleme, görüntü elde etme ve veri kalitesinde değişkenliğe yol açarak tekrarlanabilirliği ve yapay zeka destekli analizlere olan güveni azaltmaktadır (Romanchikova vd., 2022; Yang vd., 2023).

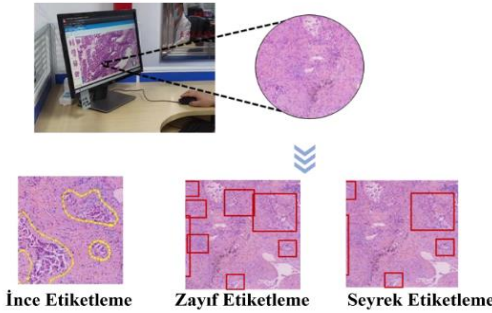
A. Veri Toplama



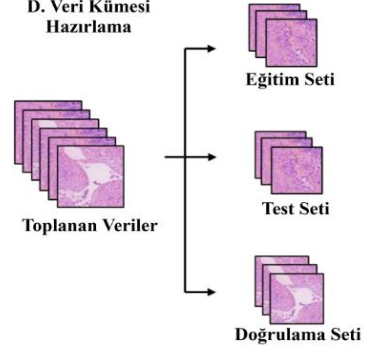
B. Dijitalleştirme ve Kalite Kontrolü



C. Etiketleme



D. Veri Kümesi Hazırlama



Şekil 18. Sağlam bir yapay zekâ sistemi için veri hazırlama işlem hattı

zorluğu. (A) Veri toplama. Histopatoloji arşivinden slaytların bulunması, ardından titiz bir tarama ve inceleme süreci. (B) Dijitalleştirme ve kalite kontrolü. WSI'ları elde etmek için slaytların dijital tarayıcı kullanılarak dijitalleştirilmesi. Görüntü bozulmasını düzeltmek için teknoloji kullanılması. Ardından patologlar ve histologlar WSI'ların kalitesini inceler. (C) Etiketleme. Bu şekil, soldan sağa üç tür etiketlemeyi göstermektedir: ince, zayıf, seyrek etiketleme. (D) Veri kümesi hazırlama. Toplanan

veriler eğitim kümesi, test kümesi ve doğrulama kümesi olarak ayrılmalıdır (Yang vd., 2023).

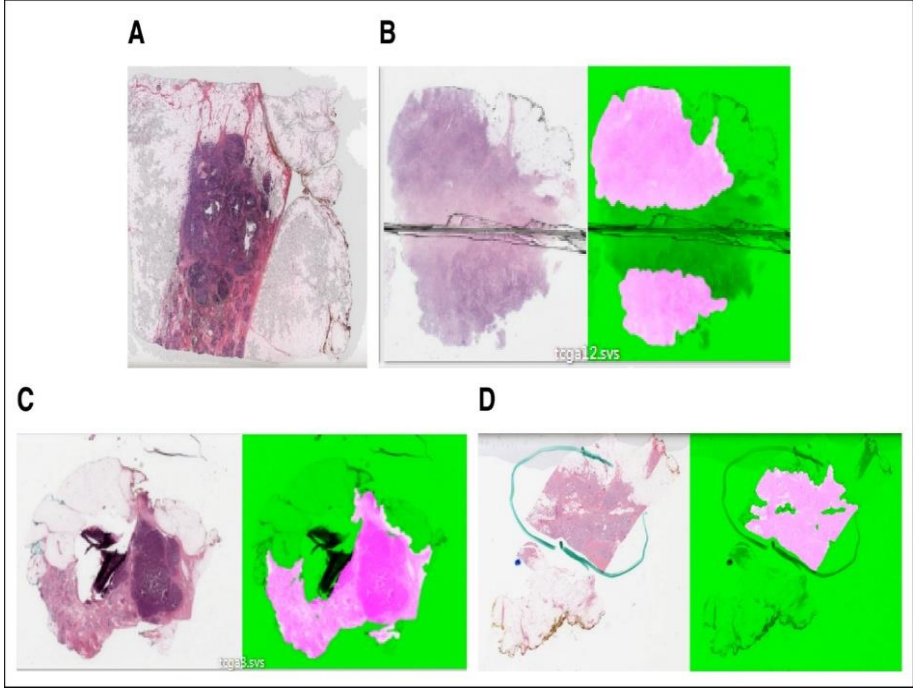
Ek olarak, düzenleyici ve yasal engeller, yetersiz eğitim ve sağlam altyapı ve kalite kontrol mekanizmalarına duyulan ihtiyaç önemli engeller oluşturmaktadır (Eloy vd., 2025). Genel olarak, etkili veri standardizasyonuna ulaşmak, birlikte çalışabilirliği, veri bütünlüğünü ve dijital patolojide klinik faydayı sağlamak için çok disiplinli işbirliği, altyapıya yatırım, net politikalar ve satıcıdan bağımsız standartların geliştirilmesini gerektirir (Brancato vd., 2024; “Digital Imaging in Pathology”, 2005).

ARTEFAKTLARIN DERİN ÖĞRENME İLE ANALİZİ VE DÜZELTİLMESİ

Yapay Zeka Destekli Kalite Kontrol (Automated QC)

Dijital patolojide yapay zeka tabanlı otomatik kalite kontrolü (QC) ve artefakt tespiti, tanı doğruluğunu ve yapay zeka modelinin performansını bozabilecek hava kabarcıkları, kıvrımlar, toz, odak dışı bölgeler ve kalem izleri gibi artefaktların yarattığı zorlukları gidermek için önemli ölçüde gelişmiştir. SlideQC gibi araçlar, yüksek hassasiyet ve özgüllükle birden fazla artefakt türünü tespit etmek ve ana hatlarını belirlemek için derin öğrenmeyi kullanır ve görüntü metriklerini ve sınıflandırıcıları birleştirerek artefakt lokalizasyonu ve kohort düzeyinde kalite değerlendirmesi yapan HistoQC gibi önceki

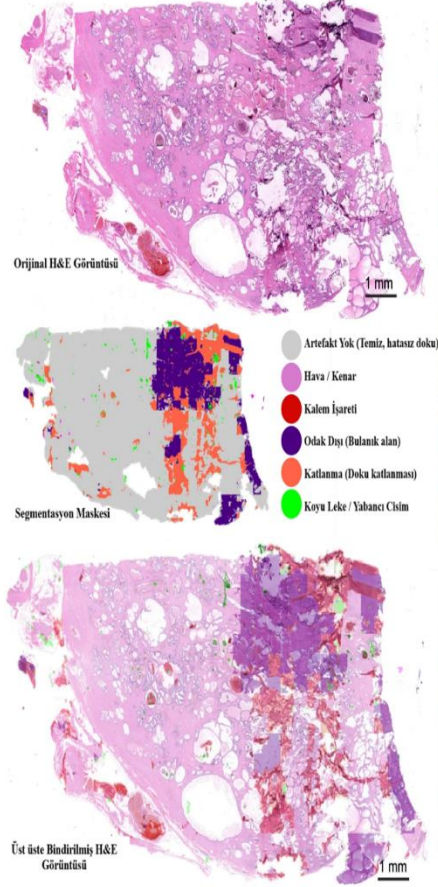
yöntemlerden daha iyi performans gösterir (Janowczyk vd., 2019; Rodrigues vd., 2023).



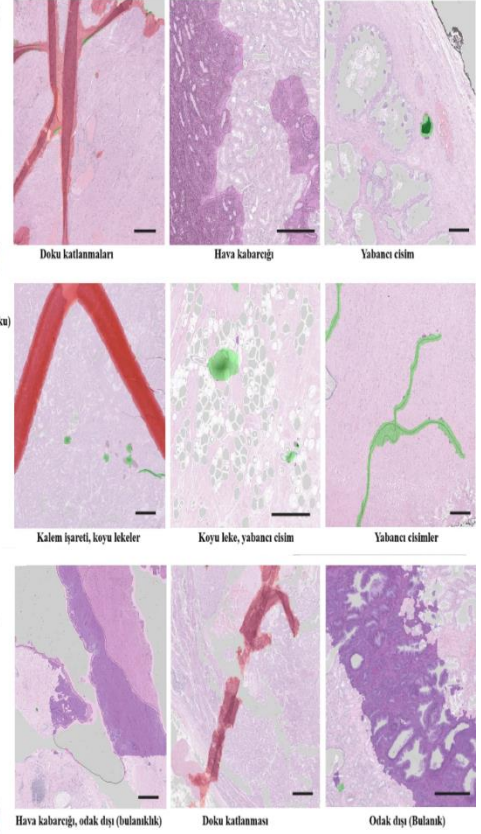
Şekil 19. Orijinal görüntüler, HistoQC'den elde edilen sonuçlarla yan yana gösterilmiştir (fuşya rengi kabul edilebilir dokuyu gösterir): A. Deney grubundan çıkarılması gereken önemli hava kabarcığı artefaktı. B. Kapak camı çatlağının yakınında bulanık doku. C. Katlanmış doku ve D. Kaçınılması gereken bölgeler olarak doğru bir şekilde tanımlanan kalem izleri olduğu tespit edilen görüntüler.

Son gelişmeler arasında, çeşitli veri kümelerinde dokuyu ve birden fazla artefakt sınıfını yüksek hassasiyetle segmentlere ayıran, slayt kalitesi varyasyonlarının izlenmesini sağlayan ve sonraki analizleri iyileştiren GrandQC yer almaktadır (Weng vd., 2024).

A. GrandQC ile tüm slayt görüntüsünün işlenmesine örnek



B. GrandQC ile artefakt segmentasyonuna örnek



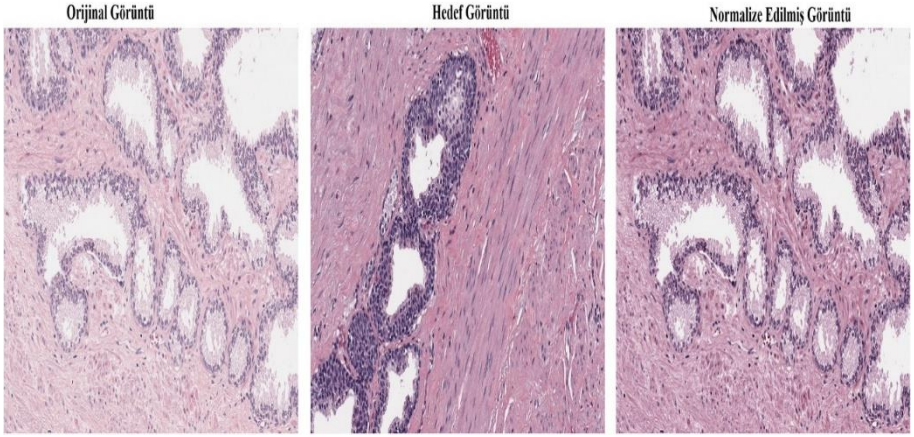
Şekil 20. A. GrandQC ile tüm slayt görüntüsünün işlenmesine bir örnek.

Önemli sayıda artefakt içeren bir prostatektomi vakasından alınan bir görüntü gösterilmiştir. Tespit edilebilir artefakt sınıfları ve artefakt içermeyen alanlar farklı renklerle gösterilmiştir (renk açıklamasına bakınız). Arka plan beyaz renkle gösterilmiştir (doku algılama modülü tarafından algılanmıştır). B. GrandQC artefakt algılama modülü tarafından artefakt algılamasının daha temsil edici, yüksek çözünürlüklü örnekleri. Tüm ölçek çubukları 200 µm'dir.<https://BioRender.com> ile oluşturulmuştur.(Weng vd., 2024)

Evrişimsel sinir ağırları kullanılarak artefaktların şiddet değerlendirmesi, tanısal olarak ilgili ve ilgisiz artefakt bölgelerini ayırt ederek otomatik kalite kontrolünü daha da iyileştirir ve güvenilirliği artırır (Hossain vd., 2023). Genel olarak, bu yapay zeka destekli kalite kontrol sistemleri, tam slayt otomatik taramasını sağlayarak, manuel iş yükünü azaltarak ve sağlam dijital patoloji iş akışlarını destekleyerek verimliliği artırır. Bununla birlikte, artefakt tanımlarının standartlaştırılması ve kalite kontrolünün klinik süreçlere sorunsuz bir şekilde entegre edilmesi konusunda zorluklar devam etmektedir (Bhuiyan & Abdullah, 2022; Brixte vd., 2022; Schömig-Markiefka vd., 2021).

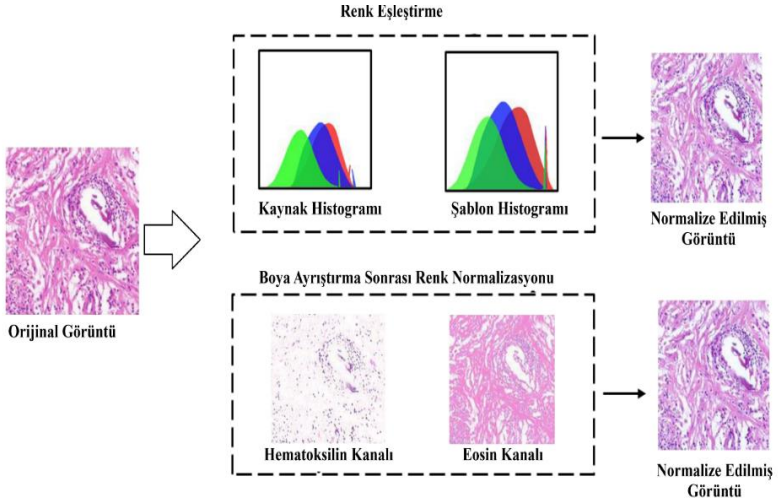
Boyama Normalizasyonu (Stain Normalization)

Histopatolojide boyama normalizasyonu, boyama protokollerindeki, tarayıcılardaki ve doku özelliklerindeki farklılıklardan kaynaklanan renk değişkenliğini azaltmak için çok önemlidir; bu değişkenlik hem patolog ve histolog teşhisini hem de otomatik görüntü analizini olumsuz etkileyebilir. Geleneksel yöntemler, doku yapısını korurken renk görünümünü standartlaştırmak için genellikle boya vektörü tahminine, renk eşleştirmeye ve kümeleme tekniklerine dayanır; bazı yaklaşımlar ise biyolojik uygunluğu korumak için seyrek boya ayrımını içerir (Anghel vd., 2019; Salvi vd., 2020b; Vahadane vd., 2016).



Şekil 21. H&E boyalı doku preparatının boya normalizasyonu: orijinal görüntü (solda), hedef görüntü (ortada) ve normalize edilmiş görüntü (sağda) (Michielli vd., 2022).

Üretken çelişkili ağlar ve kendi kendine denetimli öğrenme dahil olmak üzere derin öğrenme yaklaşımları, yoğun ön işleme veya referans şablonlarına bağlı kalmadan sağlamlık, doku koruma ve genelleştirme özelliklerini geliştirerek bu alanda son zamanlarda ilerleme kaydetmiştir (Du vd., 2025; C. Xu vd., 2025; Ye vd., 2025a). Karşılaştırmalı çalışmalar, yapı koruyucu ve birleşik dönüşüm tabanlı yöntemlerin, veri kümeleri arasında görüntü kalitesini ve tekrarlanabilirliği korumada diğerlerinden daha iyi performans gösterdiğini ortaya koymaktadır (Hoque vd., 2024).

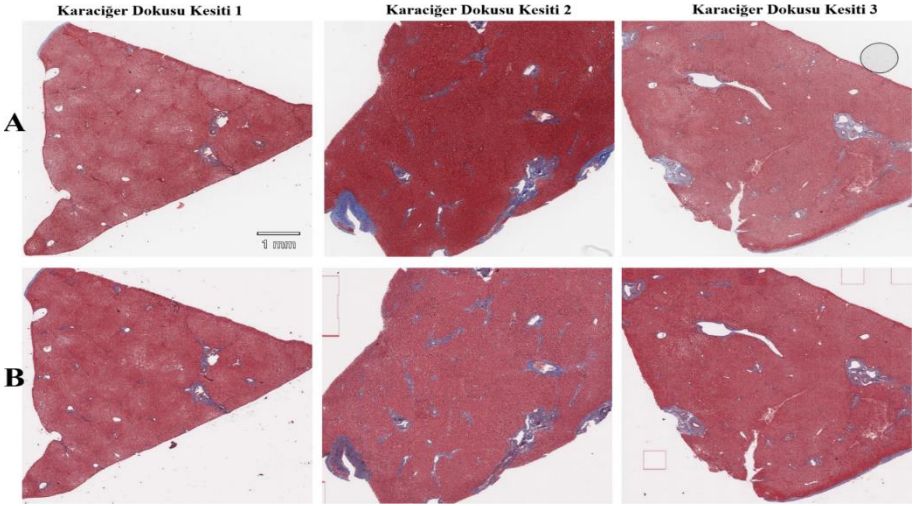


Şekil 22. İki renk normalleştirme yöntemi. Yukarıdan aşağıya: Histogram Tabanlı Renk Eşleştirme: Bu yöntem, histogram tabanlı eşleştirme kullanılarak renk normalleştirmeyi içerir. Boya Ayırıştırma Sonrası Renk Normalleştirme: Burada, hematoksin ve eosin boyası ayrıştırılır ve giriş görüntüsü şablon görüntüyle hizalanır (Yang vd., 2023).

Histopatolojik görüntülerdeki artefakt varlığı normalizasyon doğruluğunu olumsuz etkileyebilir, ancak parametre çapraz kontrolü ve lekeye uyarlanabilir öğrenme ile geliştirilmiş ardışık işlemler bu sorunları hafifletmeye yardımcı olarak kanser sınıflandırması gibi sonraki görevleri iyileştirir (Ye vd., 2025b). Klinik değerlendirmeler ayrıca boya normalizasyonunun görüntü kalitesini ve tanısal tutarlılığı iyileştirdiğini doğrulamakta ve rutin dijital patoloji iş akışlarına entegrasyonunu desteklemektedir (Michielli vd., 2022).

Stil Transferi ve Sanal Boyama (Virtual Staining)

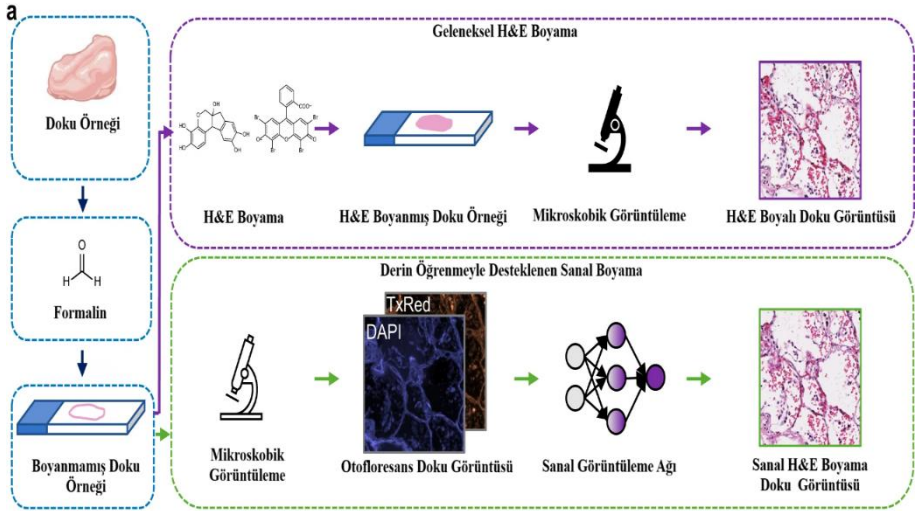
Sanal boyama, genellikle üretken çelişkili ağları (GAN'lar) gibi derin öğrenme modelleri kullanılarak, etiket içermeyen doku örneklerinden boyanmış görüntülerin hesaplamalı olarak üretilmesi yoluyla, kimyasal boyamaya hızlı ve tahribatsız bir alternatif sunar (Rivenson vd., 2019; Wang vd., 2025). Bu teknoloji, geleneksel kimyasal histolojik boyama prosedürlerinde gerekli olan emek, yoğun örnek hazırlama, özel laboratuvar ekipmanı ve yüksek eğitilmiş personel ihtiyacını ortadan kaldırır. Dijital olarak boyanmış histolojik görüntüler oluşturmak için derin öğrenmeden yararlanan bu teknik, verimli, doğru ve uygun maliyetli bir alternatif sunar (Musumeci, 2014).



Şekil 23. Karaciğer dokusu kesitlerinin tüm slayt görüntülemesi için boyama standardizasyonu; histolojik olarak boyanmış (A) ve sanal olarak boyanmış (B) görüntüleri göstermektedir.

Sanal boyama yaklaşımı, histolojik boyama sürecinin bir parçası olan boyama değişkenliğini azaltmaya yardımcı olabilir.

Doku kıvrımları, boyama tutarsızlıkları ve kimyasal işlemden kaynaklanan hasar gibi artefaktlar oluşturabilen fiziksel boyamanın aksine, sanal boyama, doku fiksasyonu veya kesit alma gerektirmeden doğrudan optik veya otofloresans görüntüler üzerinde çalışarak bu sorunları azaltabilir veya önleyebilir (Y. Li vd., 2024; Rivenson vd., 2019).



Şekil 24. Geleneksel H&E histokimyasal boyama (üstte), histoteknologlar

tarafından gerçekleştirilen kimyasal örnek işleme prosedürlerini gerektirir; bu prosedürler zaman alıcı, emek yoğun, maliyetli ve otopsi örneklerinde doku otolizinden kaynaklanan olası boyama başarısızlıklarına yatkındır. Buna karşılık, derin öğrenmeye dayalı sanal boyama sinir ağı (altta), otofloresans mikroskopi görüntülerine dayanarak etiketlenmemiş otopsi doku kesitlerinin hızlı, uygun maliyetli ve doğru sanal boyamasını gerçekleştirmek için kullanılabilir; bu da

histokimyasal boyamanın başarısız olduğu otolitik doku alanlarında bile yüksek kaliteli boyama sonuçları sağlayabilir.

Bununla birlikte, sanal boyama yöntemleri, sınır artefaktlarına neden olabilen büyük görüntülerin yama bazında işlenmesiyle ilgili zorluklarla karşı karşıyadır; Güvene dayalı döşeme ve değer eşleme kısıtlamaları gibi gelişmiş teknikler, bu yapaylıkları azaltmak ve sürekliliği iyileştirmek için geliştirilmiştir (Wang vd., 2025). Sanal boyama, fiziksel boyama kalitesinin düşük olduğu otolize olmuş postmortem doku gibi zor durumlarda bile yapaylık içermeyen görüntüler üretme yeteneğini göstermiş ve yaygın fiziksel boyama yapaylıklarına karşı sağlamlığını vurgulamıştır (Y. Li vd., 2024). Sanal boyama hala halüsinasyonlardan veya hesaplama yapaylıklarından etkilenebilirken, devam eden araştırmalar güvenilirliği artırmak için artefakt tespiti ve düzeltmesine odaklanmaktadır (Fanous vd., 2023; L. Huang vd., 2025).

Genel olarak, sanal boyama, fiziksel manipölasyon ve kimyasal maruziyetten kaçınarak doku kıvrımlarını ve yapaylıkları daha etkili bir şekilde ele alır, ancak sanal yaklaşıma özgü görüntü işleme yapaylıklarını ele almak için gelişmiş hesaplama yöntemleri gerektirir (Rivenson vd., 2019; Wang vd., 2025).

KAYNAKÇA

- Alturkistani, H. A., Tashkandi, F. M., & Mohammedsaleh, Z. M. (2016). Histological Stains: A Literature Review and Case Study. *Global Journal of Health Science*, 8(3), 72-79. <https://doi.org/10.5539/gjhs.v8n3p72>
- Ancheta, K., Le Calvez, S., & Williams, J. (2024). The digital revolution in veterinary pathology. *Journal of Comparative Pathology*, 214, 19-31. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2024.08.001>
- Anghel, A., Stanisavljevic, M., Andani, S., Papandreou, N., Rüschhoff, J. H., Wild, P., Gabrani, M., & Pozidis, H. (2019). A High-Performance System for Robust Stain Normalization of Whole-Slide Images in Histopathology. *Frontiers in Medicine*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00193>
- Azevedo Tosta, T. A., de Faria, P. R., Neves, L. A., & do Nascimento, M. Z. (2019a). Computational normalization of H&E-stained histological images: Progress, challenges and future potential. *Artificial Intelligence in Medicine*, 95, 118-132. <https://doi.org/10.1016/j.artmed.2018.10.004>
- Azevedo Tosta, T. A., de Faria, P. R., Neves, L. A., & do Nascimento, M. Z. (2019b). Computational normalization of H&E-stained histological images: Progress, challenges and future potential. *Artificial Intelligence in Medicine*, 95, 118-132. <https://doi.org/10.1016/j.artmed.2018.10.004>

- Babic, A., Loftin, I. R., Stanislaw, S., Wang, M., Miller, R., Warren, S. M., Zhang, W., Lau, A., Miller, M., Wu, P., Padilla, M., Grogan, T. M., Pestic-Dragovich, L., & McElhinny, A. S. (2010). The impact of pre-analytical processing on staining quality for H&E, dual hapten, dual color *in situ* hybridization and fluorescent *in situ* hybridization assays. *Methods*, 52(4), 287-300. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2010.08.012>
- Babu1, N. A., Anjuga2, E. P. S., K.M.K.Masthan3, & E.Rajesh4. (2020). Artifacts in Histopathology – A Review. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 14(4), 1243-1250. <https://doi.org/10.37506/ijfmt.v14i4.11699>
- Baqui, M. N., Rozhana, S., Rajib, R. C., Huda, M. M., Mesbahuzzaman, -Mohammad, & Paul, T. K. (2013). Frequency of Mislabeled Specimen in a Histopathology Laboratory. *Journal of Surgical Sciences*, 17(2), 80-83. <https://doi.org/10.3329/jss.v17i2.43726>
- Bazyleva, E., De Schutter, H., Croes, R., Deman, F., Roose, E., Van de Vijver, K., Seegers, P., & Dendooven, A. (2025). Obstacles and drivers in the adoption of Standardized Structured Reporting (SSR): Insights from pathologists. *Virchows Archiv*, 487(1), 163-173. <https://doi.org/10.1007/s00428-024-04012-2>
- Benton, H. M., Butters, M., Brous, M., Bolon, B., Copeland, K., Fortin, J. S., & Chlipala, E. (2025). Utilizing image analysis by optical density to evaluate changes in hematoxylin and eosin staining quality after reagent overuse. *Journal of Histotechnology*, 48(3), 123-134. <https://doi.org/10.1080/01478885.2025.2517906>

- Bertram, C. A., & Klopfleisch, R. (2017). The Pathologist 2.0: An Update on Digital Pathology in Veterinary Medicine. *Veterinary Pathology*, 54(5), 756-766. <https://doi.org/10.1177/0300985817709888>
- Bhargava, R., & Madabhushi, A. (2016). Emerging Themes in Image Informatics and Molecular Analysis for Digital Pathology. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 18(Volume 18, 2016), 387-412. <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-112415-114722>
- Bhuiyan, M. R., & Abdullah, J. (2022). Detection on Cell Cancer Using the Deep Transfer Learning and Histogram Based Image Focus Quality Assessment. *Sensors*, 22(18), 7007. <https://doi.org/10.3390/s22187007>
- Bianconi, F., Kather, J. N., & Reyes-Aldasoro, C. C. (2020). Experimental Assessment of Color Deconvolution and Color Normalization for Automated Classification of Histology Images Stained with Hematoxylin and Eosin. *Cancers*, 12(11), 3337. <https://doi.org/10.3390/cancers12113337>
- Blom, S., Paavolainen, L., Bychkov, D., Turkki, R., Mäki-Teeri, P., Hemmes, A., Välimäki, K., Lundin, J., Kallioniemi, O., & Pellinen, T. (2017). Systems pathology by multiplexed immunohistochemistry and whole-slide digital image analysis. *Scientific Reports*, 7(1), 15580. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15798-4>
- Brancato, V., Esposito, G., Coppola, L., Cavaliere, C., Mirabelli, P., Scapicchio, C., Borgheresi, R., Neri, E., Salvatore, M., &

- Aiello, M. (2024). Standardizing digital biobanks: Integrating imaging, genomic, and clinical data for precision medicine. *Journal of Translational Medicine*, 22(1), 136. <https://doi.org/10.1186/s12967-024-04891-8>
- Brixtel, R., Bougleux, S., Lézoray, O., Caillot, Y., Lemoine, B., Fontaine, M., Nebati, D., & Renouf, A. (2022). Whole Slide Image Quality in Digital Pathology: Review and Perspectives. *IEEE Access*, 10, 131005-131035. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2022.3227437>
- Bueno, G., Déniz, O., Fernández-Carrobles, M. D. M., Vállez, N., & Salido, J. (2014). An automated system for whole microscopic image acquisition and analysis. *Microscopy Research and Technique*, 77(9), 697-713. <https://doi.org/10.1002/jemt.22391>
- Chan, J. K. C. (2014). The Wonderful Colors of the Hematoxylin–Eosin Stain in Diagnostic Surgical Pathology. *International Journal of Surgical Pathology*. <https://doi.org/10.1177/1066896913517939>
- Chatterjee, S. (2014). Artefacts in histopathology. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology: JOMFP*, 18(Suppl 1), S111-116. <https://doi.org/10.4103/0973-029X.141346>
- Clunie, D. A. (2021). DICOM Format and Protocol Standardization—A Core Requirement for Digital Pathology Success. *Toxicologic Pathology*, 49(4), 738-749. <https://doi.org/10.1177/0192623320965893>
- de Haan, K., Zhang, Y., Zuckerman, J. E., Liu, T., Sisk, A. E., Diaz, M. F. P., Jen, K.-Y., Nobori, A., Liou, S., Zhang, S., Riahi, R.,

- Rivenson, Y., Wallace, W. D., & Ozcan, A. (2021). Deep learning-based transformation of H&E stained tissues into special stains. *Nature Communications*, 12(1), 4884. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25221-2>
- Dibal, N. I., Garba, S. H., & Jacks, T. W. (2022). Histological stains and their application in teaching and research. *Asian Journal of Health Sciences*, 8(2), ID43-ID43. <https://doi.org/10.15419/ajhs.v8i2.514>
- Digital imaging in pathology: The case for standardization. (2005). *Journal of Telemedicine and Telecare*, 11(3), 109-116. <https://doi.org/10.1258/1357633053688705>
- Du, Z., Zhang, P., Huang, X., Hu, Z., Yang, G., Xi, M., & Liu, D. (2025). Deeply supervised two stage generative adversarial network for stain normalization. *Scientific Reports*, 15(1), 7068. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-91587-8>
- Dunn, C., Brettle, D., Hodgson, C., Hughes, R., & Treanor, D. (2025). An international study of stain variability in histopathology using qualitative and quantitative analysis. *Journal of Pathology Informatics*, 17, 100423. <https://doi.org/10.1016/j.jpi.2025.100423>
- Eloy, C., Fraggetta, F., van Diest, P. J., Polónia, A., Curado, M., Temprana-Salvador, J., Zlobec, I., Purcheras, E., Weis, C.-A., Matias-Guiu, X., Schirmacher, P., & Ryška, A. (2025). Digital transformation of pathology—The European Society of Pathology expert opinion paper. *Virchows Archiv*, 487(5), 971-981. <https://doi.org/10.1007/s00428-025-04090-w>

- Fabi, P., Ilkka, P., Sami, A., Pekka, R., & Teijo, K. (2022). *H&E Multi-Laboratory Staining Variance Exploration with Machine Learning*. <https://doi.org/10.3390/app12157511>
- Fanous, M. J., Pillar, N., & Ozcan, A. (2023). Digital staining facilitates biomedical microscopy. *Frontiers in Bioinformatics*, 3. <https://doi.org/10.3389/fbinf.2023.1243663>
- Feldman, A. T., & Wolfe, D. (2014). Tissue Processing and Hematoxylin and Eosin Staining. İçinde C. E. Day (Ed.), *Histopathology: Methods and Protocols* (ss. 31-43). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1050-2_3
- Fischer, A. H., Jacobson, K. A., Rose, J., & Zeller, R. (2008). Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *CSH Protocols*, 2008, pdb.prot4986. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot4986>
- Francis, R. J., Ferguson, D., Kempster, S., Hall, J., Berry, N., & MacLellan-Gibson, K. (2022). Blood identified and quantified in formalin fixed paraffin embedded lung sections using eosin fluorescence. *Histochemistry and Cell Biology*, 158(4), 383-388. <https://doi.org/10.1007/s00418-022-02130-z>
- Freudiger, C. W., Pfannl, R., Orringer, D. A., Saar, B. G., Ji, M., Zeng, Q., Ottoboni, L., Wei, Y., Waeber, C., Sims, J. R., De Jager, P. L., Sagher, O., Philbert, M. A., Xu, X., Kesari, S., Xie, X. S., & Young, G. S. (2012). Multicolored stain-free histopathology with coherent Raman imaging. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology*, 92(10), 1492-1502. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2012.109>

- Ghaznavi, F., Evans, A., Madabhushi, A., & Feldman, M. (2013). Digital Imaging in Pathology: Whole-Slide Imaging and Beyond. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 8(Volume 8, 2013), 331-359. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011811-120902>
- Gill, G. W. (2013). H&E Stain. İçinde G. W. Gill (Ed.), *Cytopreparation: Principles & Practice* (ss. 207-216). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4933-1_12
- Gupta, R., Kurc, T., & Saltz, J. H. (2022). Introduction to Digital Pathology from Historical Perspectives to Emerging Pathomics. İçinde A. V. Parwani (Ed.), *Whole Slide Imaging: Current Applications and Future Directions* (ss. 1-22). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-83332-9_1
- H01: The haematoxylin and eosin stain: from piracy to pathology. (2021). *British Journal of Dermatology*, 185(S1), 161-161. <https://doi.org/10.1111/bjd.20155>
- Hoque, Md. Z., Keskinarkaus, A., Nyberg, P., & Seppänen, T. (2024). Stain normalization methods for histopathology image analysis: A comprehensive review and experimental comparison. *Information Fusion*, 102, 101997. <https://doi.org/10.1016/j.inffus.2023.101997>
- Hossain, Md. S., Shahriar, G. M., Syeed, M. M. M., Uddin, M. F., Hasan, M., Hossain, Md. S., & Bari, R. (2023). Tissue Artifact Segmentation and Severity Assessment for Automatic Analysis

- Using WSI. *IEEE Access*, 11, 21977-21991.
<https://doi.org/10.1109/ACCESS.2023.3250556>
- Huang, L., Li, Y., Pillar, N., Haran, T. K., Wallace, W. D., & Ozcan, A. (2025). Hallucination and artifact detection in virtual tissue staining and digital pathology. *Computational Optical Imaging and Artificial Intelligence in Biomedical Sciences II, PC13333, PC1333316*. <https://doi.org/10.1117/12.3040910>
- Huang, P.-W., Ouyang, H., Hsu, B.-Y., Chang, Y.-R., Lin, Y.-C., Chen, Y.-A., Hsieh, Y.-H., Fu, C.-C., Li, C.-F., Lin, C.-H., Lin, Y.-Y., Dah-Tsyr Chang, M., & Pai, T.-W. (2023). Deep-learning based breast cancer detection for cross-staining histopathology images. *Heliyon*, 9(2), e13171.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13171>
- Hwang, K., Vezeau, G., Olejnik, E., Wood, D., Cardenes, R., Duro, L., Chatterjee, G., & Lee, J. H. (2024). Abstract 3767: A novel method to minimize HIER-induced alterations on H&E staining in an integrated mIF-H&E workflow. *Cancer Research*, 84(6_Supplement), 3767. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2024-3767>
- Indu, M., Rathy, R., & Binu, M. P. (2016). “Slide less pathology”: Fairy tale or reality? *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology: JOMFP*, 20(2), 284-288. <https://doi.org/10.4103/0973-029X.185921>
- Iqbal, A. A., Zahoor, M., Tasawar, Z., Abdullah, S., Shafiq, S., & Raza, M. (2025). EVOLVING TRENDS IN DIAGNOSTIC PATHOLOGY: FROM CONVENTIONAL MICROSCOPY

- TO DIGITAL AND AI-ASSISTED SYSTEMS – A NARRATIVE REVIEW. *Insights-Journal of Life and Social Sciences*, 3(6), 240-247. <https://doi.org/10.71000/6tq7n377>
- Janowczyk, A., Zuo, R., Gilmore, H., Feldman, M., & Madabhushi, A. (2019). HistoQC: An Open-Source Quality Control Tool for Digital Pathology Slides. *JCO Clinical Cancer Informatics*, 3, 1-7. <https://doi.org/10.1200/CCI.18.00157>
- Kahr, B., Lovell, S., & Subramony, J. A. (1998). The progress of logwood extract. *Chirality*, 10(1-2), 66-77. <https://doi.org/10.1002/chir.12>
- Kay, A. B. (2015). The early history of the eosinophil. *Clinical & Experimental Allergy*, 45(3), 575-582. <https://doi.org/10.1111/cea.12480>
- Kim, J., Choi, W., Yoo, D., Kim, M., Cho, H., Sung, H.-J., Choi, G., Uh, J., Kim, J., Go, H., & Choi, K.-H. (2023). Solution-free and simplified H&E staining using a hydrogel-based stamping technology. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11, 1292785. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1292785>
- Krishnanand, P., Kamath, V., Nagaraja, A., & Badni, M. (2010). Artefacts in Oral Mucosal Biopsies – A Review. *Journal of Orofacial Sciences*, 2(1), 57. <https://doi.org/10.4103/0975-8844.101205>
- Kumar, N., Gupta, R., & Gupta, S. (2020). Whole Slide Imaging (WSI) in Pathology: Current Perspectives and Future Directions. *Journal of Digital Imaging*, 33(4), 1034-1040. <https://doi.org/10.1007/s10278-020-00351-z>

- Kurniawaty, N. F., Murti, K., & Ramkita, N. (2024). Correlation between the Pre-Analytical Stage and Quality of Breast Histopathology Specimen. *Jurnal RSMH Palembang*, 5(1), 335-339.
- Langenbacher, R. E., Horoszkco, C. P., Kim, M., & Heller, D. A. (2023). Hematoxylin Nuclear Stain Reports Oxidative Stress Via Near-Infrared Emission. *ACS chemical biology*, 18(5), 1237-1245. <https://doi.org/10.1021/acschembio.3c00156>
- Larson, K., Ho, H. H., Anumolu, P. L., & Chen, M. T. (2011a). Hematoxylin and Eosin Tissue Stain in Mohs Micrographic Surgery: A Review. *Dermatologic Surgery*, 37(8), 1089. <https://doi.org/10.1111/j.1524-4725.2011.02051.x>
- Larson, K., Ho, H. H., Anumolu, P. L., & Chen, M. T. (2011b). Hematoxylin and Eosin Tissue Stain in Mohs Micrographic Surgery: A Review. *Dermatologic Surgery*, 37(8), 1089. <https://doi.org/10.1111/j.1524-4725.2011.02051.x>
- Li, L., Wang, A., Liu, X., Wang, G., Xu, S., Li, C., Wu, W., Zhang, X., He, Z., Qiu, H., Peng, X., Yan, W., & Qu, J. (2025). Fluorescence lifetime imaging microscopy approach reveals quantitative signatures for hepatocellular carcinoma diagnosis. *Frontiers in Oncology*, 15, 1598334. <https://doi.org/10.3389/fonc.2025.1598334>
- Li, Y., Pillar, N., Li, J., Liu, T., Wu, D., Sun, S., Ma, G., de Haan, K., Huang, L., Zhang, Y., Hamidi, S., Urisman, A., Keidar Haran, T., Wallace, W. D., Zuckerman, J. E., & Ozcan, A. (2024). Virtual histological staining of unlabeled autopsy tissue. *Nature*

- Communications*, 15(1), 1684. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-46077-2>
- Llewellyn, B. (2009). Nuclear staining with alum hematoxylin. *Biotechnic & Histochemistry*, 84(4), 159-177. <https://doi.org/10.1080/10520290903052899>
- Luong, R. H. (2020). Commentary: Digital histopathology in a private or commercial diagnostic veterinary laboratory. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 32(3), 353-355. <https://doi.org/10.1177/1040638720919842>
- Maciulis, M., Mazeika, V., Kontenis, L., Tokarz, D., Cisek, R., Bulotiene, D., Karabanovas, V., & Barzda, V. (2025). *Polar organization of H&E dyes in histology tissue revealed by polarimetric nonlinear microscopy* (s. 2025.05.19.654795). bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2025.05.19.654795>
- McClintock, D. S., Abel, J. T., & Cornish, T. C. (2021). Whole Slide Imaging Hardware, Software, and Infrastructure. İçinde A. V. Parwani (Ed.), *Whole Slide Imaging: Current Applications and Future Directions* (ss. 23-56). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-83332-9_2
- Mebratie, D. Y., & Dagnaw, G. G. (2024). Review of immunohistochemistry techniques: Applications, current status, and future perspectives. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 41(3), 154-160. <https://doi.org/10.1053/j.semdp.2024.05.001>
- Michielli, N., Caputo, A., Scotto, M., Mogetta, A., Pennisi, O. A. M., Molinari, F., Balmativola, D., Bosco, M., Gambella, A., Metovic, J., Tota, D., Carpenito, L., Gasparri, P., & Salvi, M.

- (2022). Stain normalization in digital pathology: Clinical multi-center evaluation of image quality. *Journal of Pathology Informatics*, 13, 100145.
<https://doi.org/10.1016/j.jpi.2022.100145>
- Musumeci, G. (2014). Past, present and future: Overview on histology and histopathology. *Journal of Histology and Histopathology*, 1(1), 5. <https://doi.org/10.7243/2055-091X-1-5>
- Ortiz-Hidalgo, C., & Pina-Oviedo, S. (2019). Hematoxylin: Mesoamerica's Gift to Histopathology. Palo de Campeche (Logwood Tree), Pirates' Most Desired Treasure, and Irreplaceable Tissue Stain. *International Journal of Surgical Pathology*, 27(1), 4-14.
<https://doi.org/10.1177/1066896918787652>
- Pantanowitz, L., Sharma, A., Carter, A. B., Kurc, T., Sussman, A., & Saltz, J. (2018a). Twenty Years of Digital Pathology: An Overview of the Road Travelled, What is on the Horizon, and the Emergence of Vendor-Neutral Archives. *Journal of Pathology Informatics*, 9, 40.
https://doi.org/10.4103/jpi.jpi_69_18
- Pantanowitz, L., Sharma, A., Carter, A. B., Kurc, T., Sussman, A., & Saltz, J. (2018b). Twenty Years of Digital Pathology: An Overview of the Road Travelled, What is on the Horizon, and the Emergence of Vendor-Neutral Archives. *Journal of Pathology Informatics*, 9(1), 40.
https://doi.org/10.4103/jpi.jpi_69_18

- Pigaiani, N., Oliva, A., Cirielli, V., Grassi, S., Arena, V., Solari, L.-M., Tatriele, N., Raniero, D., Brunelli, M., Gobbo, S., Scarpa, A., Pantanowitz, L., Rodegher, P., Bortolotti, F., & Ausania, F. (2025). iForensic, multicentric validation of digital whole slide images (WSI) in forensic histopathology setting according to the College of American Pathologists guidelines. *International Journal of Legal Medicine*, 139(3), 1161-1168.
<https://doi.org/10.1007/s00414-025-03421-5>
- Pozdnyakova, O. (t.y.). Hematopathology Practice in the Digital Era: What has Changed? *International Journal of Laboratory Hematology*, n/a(n/a). <https://doi.org/10.1111/ijlh.14515>
- Prezja, F., Pölönen, I., Äyrämö, S., Ruusuvuori, P., & Kuopio, T. (2022). H&E Multi-Laboratory Staining Variance Exploration with Machine Learning. *Applied Sciences*, 12(15), 7511.
<https://doi.org/10.3390/app12157511>
- Primary Exam Descriptions. (t.y.). *American Board of Pathology*. Geliş tarihi 19 Aralık 2025, gönderen <https://abpath.org/primary-certification/>
- Rao, S., Masilamani, S., Sundaram, S., Duvuru, P., & Swaminathan, R. (2016). Quality Measures in Pre-Analytical Phase of Tissue Processing: Understanding Its Value in Histopathology. *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR*, 10(1), EC07-EC11. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/14546.7087>
- Rastogi, V., Puri, N., Arora, S., Kaur, G., Yadav, L., & Sharma, R. (2013). Artefacts: A diagnostic dilemma - a review. *Journal of*

- Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 7(10), 2408-2413.
<https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/6170.3541>
- Rivenson, Y., Wang, H., Wei, Z., de Haan, K., Zhang, Y., Wu, Y., Günaydın, H., Zuckerman, J. E., Chong, T., Sisk, A. E., Westbrook, L. M., Wallace, W. D., & Ozcan, A. (2019). Virtual histological staining of unlabelled tissue-autofluorescence images via deep learning. *Nature Biomedical Engineering*, 3(6), 466-477. <https://doi.org/10.1038/s41551-019-0362-y>
- Rodrigues, D., Reinhard, S., Waldburger, T., Martin, D., Couto, S., Zlobec, I., Caie, P., & Burlingame, E. (2023). Abstract 5442: SlideQC: An AI-based tool for automated quality control of whole-slide digital pathology images. *Cancer Research*, 83(7_Supplement), 5442. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2023-5442>
- Rolls, G. O. (t.y.-a). *Artifacts in Histological and Cytological Preparations*. Leica Microsystems.
- Rolls, G. O. (t.y.-b). *Artifacts in Histological and Cytological Preparations*. Leica Microsystems.
- Romanchikova, M., Thomas, S. A., Dexter, A., Shaw, M., Partarrieau, I., Smith, N., Venton, J., Adeogun, M., Brettle, D., & Turpin, R. J. (2022). The need for measurement science in digital pathology. *Journal of Pathology Informatics*, 13, 100157. <https://doi.org/10.1016/j.jpi.2022.100157>
- Salvi, M., Michielli, N., & Molinari, F. (2020a). Stain Color Adaptive Normalization (SCAN) algorithm: Separation and standardization of histological stains in digital pathology.

- Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 193, 105506.
<https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2020.105506>
- Salvi, M., Michielli, N., & Molinari, F. (2020b). Stain Color Adaptive Normalization (SCAN) algorithm: Separation and standardization of histological stains in digital pathology. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 193, 105506.
<https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2020.105506>
- Satapute, M., P, S., & Gu, K. (2020). Artifacts: A menace in histopathology. *International Journal of Clinical and Diagnostic Pathology*, 3(1), 290-292.
<https://doi.org/10.33545/pathol.2020.v3.i1e.185>
- Schömig-Markiefka, B., Pryalukhin, A., Hulla, W., Bychkov, A., Fukuoka, J., Madabhushi, A., Achter, V., Nieroda, L., Büttner, R., Quaas, A., & Tolkach, Y. (2021). Quality control stress test for deep learning-based diagnostic model in digital pathology. *Modern Pathology*, 34(12), 2098-2108.
<https://doi.org/10.1038/s41379-021-00859-x>
- Schreiber, B. A., Denholm, J., Jaeckle, F., Arends, M. J., Branson, K. M., Schönlieb, C.-B., & Soilleux, E. J. (2024). Rapid artefact removal and H&E-stained tissue segmentation. *Scientific Reports*, 14(1), 309. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-50183-4>
- Soyab, T. (2020). Special Stains Used in Histopathological Techniques: A Brief View. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 14(4), 8632-8636.
<https://doi.org/10.37506/ijfmt.v14i4.13059>

- Taqi, S. A., Sami, S. A., Sami, L. B., & Zaki, S. A. (2018). A review of artifacts in histopathology. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology : JOMFP*, 22(2), 279.
https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_125_15
- Tehrani, K. F., Park, J., Chaney, E. J., Tu, H., & Boppart, S. A. (2023). Nonlinear Imaging Histopathology: A Pipeline to Correlate Gold-Standard Hematoxylin and Eosin Staining With Modern Nonlinear Microscopy. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics: A Publication of the IEEE Lasers and Electro-Optics Society*, 29(4 Biophotonics), 6800608.
<https://doi.org/10.1109/jstqe.2022.3233523>
- Titford, M. (2005a). The long history of hematoxylin. *Biotechnic & Histochemistry: Official Publication of the Biological Stain Commission*, 80(2), 73-78.
<https://doi.org/10.1080/10520290500138372>
- Titford, M. (2005b). The long history of hematoxylin. *Biotechnic & Histochemistry*, 80(2), 73-78.
<https://doi.org/10.1080/10520290500138372>
- Vahadane, A., Peng, T., Sethi, A., Albarqouni, S., Wang, L., Baust, M., Steiger, K., Schlitter, A. M., Esposito, I., & Navab, N. (2016). Structure-Preserving Color Normalization and Sparse Stain Separation for Histological Images. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 35(8), 1962-1971.
<https://doi.org/10.1109/TMI.2016.2529665>
- Wang, J., Xiong, B., Zhou, Y., Cao, X., & Ma, Z. (2025). VM-GAN: A value mapping framework for virtual staining of optical

- microscopy images. *Optics Express*, 33(12), 25641-25655.
<https://doi.org/10.1364/OE.566786>
- Weng, Z., Seper, A., Pryalukhin, A., Mairinger, F., Wickenhauser, C., Bauer, M., Glamann, L., Bläker, H., Lingscheidt, T., Hulla, W., Jonigk, D., Schallenberg, S., Bychkov, A., Fukuoka, J., Braun, M., Schömig-Markiefka, B., Klein, S., Thiel, A., Bozek, K., ... Tolkach, Y. (2024). GrandQC: A comprehensive solution to quality control problem in digital pathology. *Nature Communications*, 15(1), 10685.
<https://doi.org/10.1038/s41467-024-54769-y>
- Wharton, K. A., Jr., Ranger-Moore, J., Seng, H., Borowsky, A. D., Behling, C. A., Cacciabeve, N., LaFriniere, M., Feddersen, R. M., Williams, C., Baldwin, D., Louie, R., Murata, L., Smith, C., Visoski, A., Zhao, M., Singh, S., & Gardner, T. N. (2025). Roche Digital Pathology Dx whole slide imaging system is comparable to traditional microscopy for primary diagnosis in surgical pathology. *American Journal of Clinical Pathology*, 164(3), 367-384. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqaf052>
- Wick, M. R. (2019). The hematoxylin and eosin stain in anatomic pathology-An often-neglected focus of quality assurance in the laboratory. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 36(5), 303-311.
<https://doi.org/10.1053/j.semmp.2019.06.003>
- Wright, A. M., Smith, D., Dhurandhar, B., Fairley, T., Scheiber-Pacht, M., Chakraborty, S., Gorman, B. K., Mody, D., & Coffey, D. M. (2013). Digital slide imaging in cervicovaginal cytology: A

- pilot study. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 137(5), 618-624. <https://doi.org/10.5858/arpa.2012-0430-OA>
- Wynnchuk, M. (1990). An Artifact of H&E Staining: The Problem and Its Solution. *Journal of Histotechnology*, 13(3), 193-198. <https://doi.org/10.1179/his.1990.13.3.193>
- Xu, C., Sun, Y., Zhang, Y., Liu, T., Wang, X., Hu, D., Huang, S., Li, J., Zhang, F., & Li, G. (2025). Stain Normalization of Histopathological Images Based on Deep Learning: A Review. *Diagnostics*, 15(8), 1032. <https://doi.org/10.3390/diagnostics15081032>
- Xu, H., Usuyama, N., Bagga, J., Zhang, S., Rao, R., Naumann, T., Wong, C., Gero, Z., González, J., Gu, Y., Xu, Y., Wei, M., Wang, W., Ma, S., Wei, F., Yang, J., Li, C., Gao, J., Rosemon, J., ... Poon, H. (2024). A whole-slide foundation model for digital pathology from real-world data. *Nature*, 630(8015), 181-188. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-07441-w>
- Yang, Y., Sun, K., Gao, Y., Wang, K., & Yu, G. (2023). Preparing Data for Artificial Intelligence in Pathology with Clinical-Grade Performance. *Diagnostics*, 13(19), 3115. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13193115>
- Ye, H., Yang, Y., Zhu, S., Wang, D.-H., Zhang, X.-Y., Yang, X., & Huang, H. (2025a). Stain-adaptive self-supervised learning for histopathology image analysis. *Pattern Recognition*, 161, 111242. <https://doi.org/10.1016/j.patcog.2024.111242>
- Ye, H., Yang, Y., Zhu, S., Wang, D.-H., Zhang, X.-Y., Yang, X., & Huang, H. (2025b). Stain-adaptive self-supervised learning for

- histopathology image analysis. *Pattern Recognition*, 161, 111242. <https://doi.org/10.1016/j.patcog.2024.111242>
- Zarella, M. D., Bowman, D., Aeffner, F., Farahani, N., Xthona, A., Absar, S. F., Parwani, A., Bui, M., & Hartman, D. J. (2019). A Practical Guide to Whole Slide Imaging: A White Paper From the Digital Pathology Association. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 143(2), 222-234.
<https://doi.org/10.5858/arpa.2018-0343-RA>
- Zarella, M. D., Breen, D. E., Plagov, A., & Garcia, F. U. (2015). An optimized color transformation for the analysis of digital images of hematoxylin & eosin stained slides. *Journal of Pathology Informatics*, 6(1), 33. <https://doi.org/10.4103/2153-3539.158910>
- Zargaran, M. (2019). Clinicians' role in the occurrence of oral biopsy artifacts as a potential diagnostic dilemma. *Dental and Medical Problems*, 56(3), 299-306.
<https://doi.org/10.17219/dmp/108597>

TEK SAĞLIK PERSPEKTİFİNDE DİJİTAL DÖNÜŞÜM VE GÜNCEL BİLİMSEL YAKLAŞIMLAR

