

Herpes Viruslarda Asiklovir ve Gansiklovir Direnci: Sorunun Boyutu, Mekanizmalar

Dr. Kenan Midilli

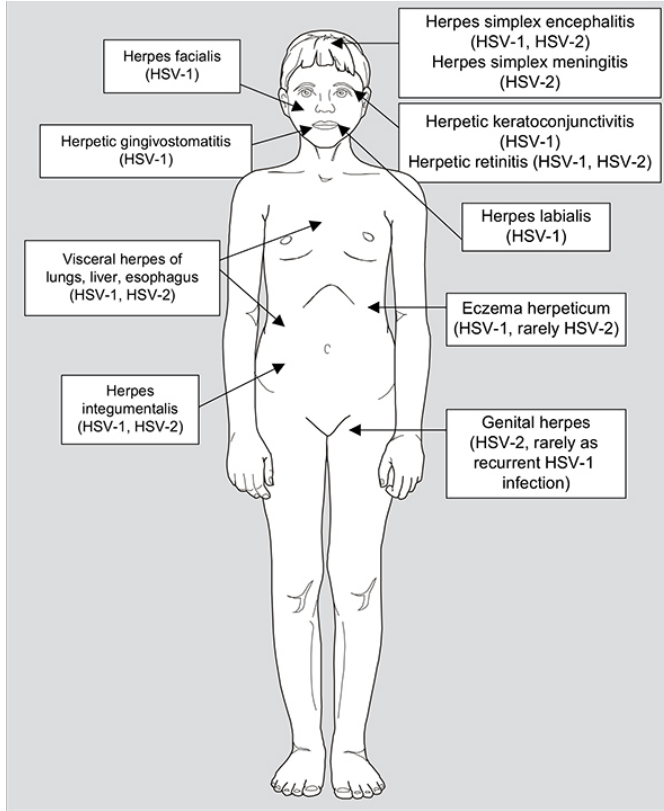
İ.Ü.

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Genel adı	Yaygın kısaltma	Resmi kısaltma	Altaile	Primer infeksiyon	Latent yerleşim yeri	Reaktivasyon
Herpes simplex virüs tip 1	HSV-1	HHV-1	Alfa	Mukokutanöz Lezyonlar (daha çok orofasyal)	Duyusal gangliyon	Rekürrent orofasyal lezyonlar, ensefalit
Herpes simplex virüs tip 2	HSV-2	HHV-2	Alfa	Mukokutanöz Lezyonlar (daha çok genital)	Duyusal gangliyon	Rekürrent genital lezyonlar, rekürrent menenjit
Varicella-zoster virus	VZV	HHV3	Alfa	Suçiçeği	Duyusal gangliyon	Zona
Cytomega-lovirus	CMV	HHV-5	Beta	Aseptomatik, İM benzeri tablo, konjenital inf.	Mononükleer Hücreler, epitel hücreleri	Nonspesifik CMV sendromu, retinit, hepatit, pnömonit, özofajit, kolit

Genel adı	Yaygın kısaltma	Resmi kısaltma	Altaile	Primer infeksiyon	Latent yerleşim yeri	Reaktivasyon
Human Herpesvirus 6A	HHV-6A	HHV-6A	Beta	Roseola infantum	T hücreleri	Ensefalit
Human Herpesvirus 6B	HHV-6B	HHV-6B	Beta	(ekzantem subitum)	T hücreleri	Ensefalit
Human Herpesvirus 7	HHV-7	HHV-7	Beta	HHV-6'ya benzer?, ptyriasis rosea?	T hücreleri	?
Epstein-Barr virüs	EBV	HHV-4	Gamma	Aseptomatik, IM	B hücreleri	Lenfoma (Burkitt, Hodkin, non-Hodkin), PTLD, nosofarinks ca, oral kılıklı hücre lökoplaki
Human herpesvirus 8/ Kaposi sarcoma associated herpesvirus	HHV-8/ KSHV	HHV8	Gamma	Aseptomatik	Lenfositler	Kaposi sarkomu, multisantirk Castleman hastalığı



- **HSV-1/2 bağışıklığı baskılanmışlarda (özellikle hücre aracılı) inatçı mukokutanöz lezyonların yanı sıra özofajit, hepatit, pnömoni, meningoensefalit gibi dissemine viseral infeksiyonlara da yol açabilir**
- **HSCT sonrası çoğunlukla HSV-1'in neden olduğu rekürrent HSV gelişme olasılığı yaklaşık %80'dir ve bu hasta hasta grubunda uzun süre tedavi gerekir → Direnç gelişme olasılığı yüksektir**

Prensip	Yöntem	Örnek türü	Açıklama
Viral DNA saptama	PCR	Vezikül aspiratı/sürüntü BOS, doku, BAL, EDTA'lı kan, amniyon sıvısı, göziçi sıvısı	Temel tanı yöntemi
Virus izolasyonu	Hücre kültürü	Vezikül aspiratı/sürüntü doku, BAL (2-8 'C)	Özel durumlarda
Virusun saptanması	IF	Hücrece zengin vezikül içeriği	Temel tanı yöntemi, duyarlılık ve özelliliği düşük
Virus tiplendirme	IF	Viral izolat	Temel tanı yöntemi

Asiklik gunosin anologları:

Asiklovir, gansiklovir, pensiklovir,
valasiklovir, valgansiklovir, famsiklovir

Asiklik nükleotid analogları:

Sidofovir, adefovir dipivoksil,

Pirofosfat analogları:

Foskarnet

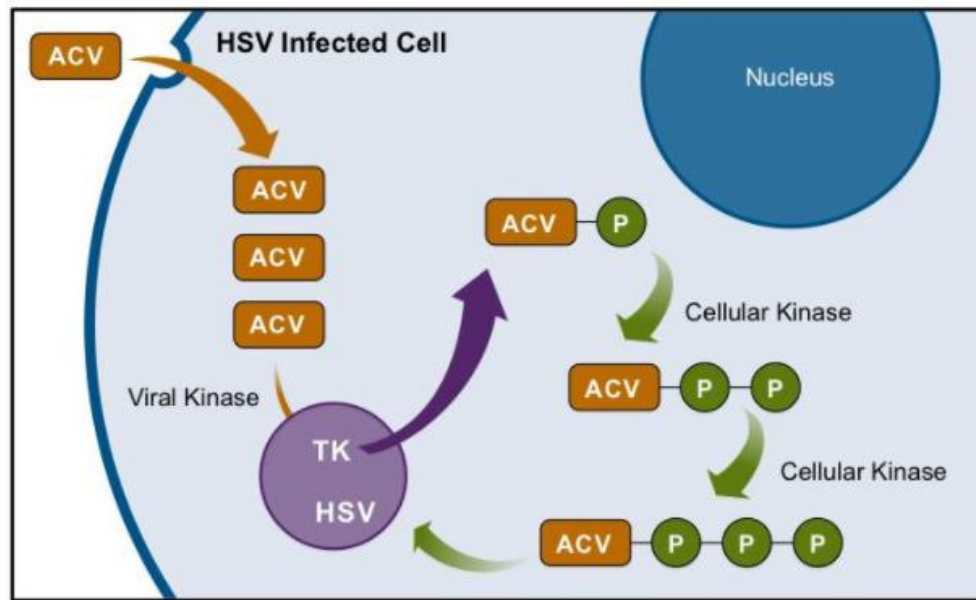
Asiklovir: HSV, VZV

Valasiklovir: HSV, VZV

Gansiklovir: HSV, CMV, VZV

Foskarnet: HSV, CMV

Disease/kind of therapy	Acyclovir	Valacyclovir	Famciclovir
Primary genital herpes	3× 400 mg orally per day for 7–10 days 5× 200 mg orally per day for 7–10 days	2× 500 mg orally per day for 7–10 days	3× 250 mg orally per day for 7–10 days
Severe cases of primary genital herpes	3× 5 mg/kg body weight intravenously for 5–7 days, under immunosuppression for 10 days		
Primary genital herpes in pregnant women ^a	5× 200 mg orally per day for 10 days		
Recurrent genital herpes (<5 recurrences per year) ^b	2× 800 mg orally for 5 days 3× 400 mg orally for 5 days 3× 800 mg orally for 2 days	2× 500 mg orally for 3 days 1× 1,000 mg orally for 5 days	2× 125 mg orally for 5 days 2× 1,000 mg orally for 1 day
Recurrent genital herpes in pregnant women	3× 400 mg orally from 36th gestational week until delivery	2× 250 mg orally for 3 days from 36th gestational week until delivery	
Preventive therapy before delivery	2× 400 mg orally for maximally 6 months		
Suppressive therapy (≥5 recurrences per year)	2× 400 mg orally for maximally 6 months 4× 200 mg orally for maximally 6 months	1× 500 mg orally for maximally 6 months	2× 250 mg orally for maximally 6 months



- Virusla infekte hücreler tarafından hücre içine alınır
- Monofosforillenme: Virusun kodladığı timidin kinaz tarafından (HSV'de UL23; VZV'de ORF 36) gerçekleştirilir
- Daha sonra ikinci ve üçüncü fosforillenme aşamaları hücreye ait GMP kinaz ve nükleozid difosfat kinaz enzimlerince gerçekleştirilir
- Aktif şekli ACV-trifosfattır ve viral DNA polimerazı yarışmalı bir şekilde inhibe eder → zorunlu zincir sonlanması
- Hücreye ait DNA polimerazlar çok daha az duyarlıdır
- ACV-TP dGTP eklenmesini inhibe eder
- Zincirin yapısına ACV-TP girer fakat 3' hidroksil ucu olmadığı için DNA polimeraz bir sonraki nükleotidi ekleyemez

- **Asiklovir direnci:**

- TK ve DNA polimerazdaki mutasyonlar aracılığı ile gelişir
- TK eksik ya da TK'nın kısmen varolduğu suşlar olabilir → Asikloviri fosforilleyemezler
- Memeli enzimlerinin inhibisyonu için gerekli ACV konsantrasyonu 100 kat daha yüksektir
- Çoğu kez diğer nükleosid analoglarına karşı da çapraz direnç söz konusu

- **Sidofovir direnci:**

- TK ya da başka kinazlar tarafından fosforillenmesi gerekmez; hücreye ait kinazlar difosforilasyonu gerçekleştirir
- dCTP analogudur

- **Foskarnet direnci:**

- Viral DNA polimerazın pirofosfat bağlanma bölgesine bağlanarak enzimi inhibe eder → dNTP'den pirofosfatın ayrıştırılmasını engelleyerek viral DNA'nın uzamasını inhibe eder
- Aktivasyonu için hücresel TK'lara gereksinim duymaz
- TK genindeki mutasyonlar foskarnete direnç kazandırmaz; ancak uzun süren tedavilerde DNA polimeraz genindeki mutasyonlar dirence yol açabilir

Direnç testleri:

- Direncin mekanizmasını saptamak
- İlaçlara göre viral mutantların ortaya çıkış hızını belirlemek
- Çapraz direnç varlığını araştırmak
- Yeni bir antivirali değerlendirmek için yapılır

Fenotipik testler

- İlacın virusun çoğalması üzerindeki etkisini doğrudan ölçer
- Farklı yöntemlerle ölçülebilir
- Zahmetli ve zaman alıcı (3-4 hafta)
- Standardizasyon güçlükleri
- Sonuçlar kullanılan yöntemle göre değişiyor
- Daha çok ACV direnç analizlerinde kullanılıyor

Genotipik testler

- Dirençle ilişkili mutasyonların saptanmasına dayanır
- RFLP, hibridizasyon, DNA dizi analizi gibi yöntemler kullanılır
- Ancak dirençle ilişkisi bilinen mutasyonlar analiz edilebilir
- Genetik değişiklikler sınırlı ise iyi sonuç verir
- Direncin saptanabilmesi için popülasyon içinde %10-20 oranına çıkmış olması gerekir

Fenotipik testleri etkileyen deęiřkenler

- Hücre soyu
- Viral inokulum titresi
- İnkubasyon süresi
- Antivirallerin konsantrasyon aralığı
- Referans suşlar
- Yöntem
- Son nokta deęerlendirme ölçütleri
- Son nokta ölçümlerinin hesaplanması ve yorumlanması

ile ilgili standartlar belirlenmemiř durumda

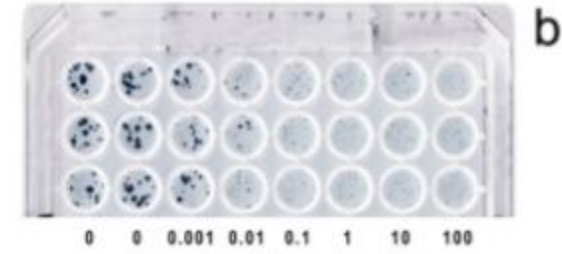
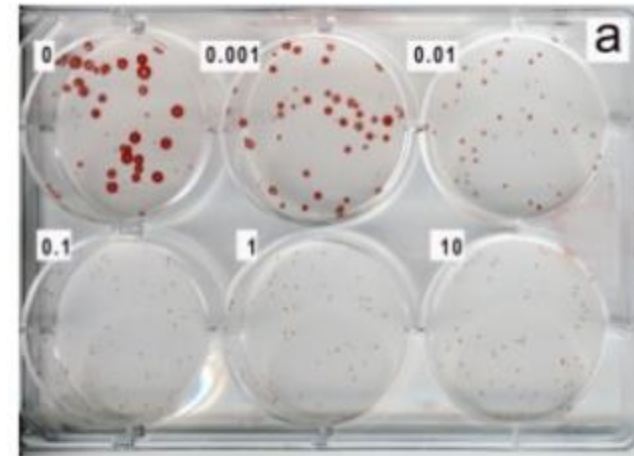
TABLE 1. *In vitro* inhibitory concentrations of antiherpetic drugs in different cell culture systems and assays

Virus	IC ₅₀ value or range (µg/ml); reference				
	Acyclovir	Penciclovir	Foscarnet	Cidofovir	Adefovir
HSV-1	0.02–0.9; 38	0.04–1.8; 38	24–60; 38	3.5–8.9; 177	7; 154
HSV-2	0.03–2.2; 38	0.06–4.4; 38	24–60; 38	3.5–8.9; 177	7; 154
VZV	0.8–4.0; 38	1.6–8.0; 38	24–60; 38	0.22; 177	10; 154
HCMV	>20; 38	51; 38	30–90; 38	0.1–0.8; 177	25; 154
EBV	1.6–2.8; 8	1.5–3.1; 8	0.6–1.0; 69	0.008; 177	0.3; 154

Fenotipik testler

Plak redüksiyon testi (PRA)

- Hücreler çukurcuklar ya da plaklarda çoğaltılır
- CLSI HSV için standartlar belirlemiş
- Hücre kültürünün üzerine eklenecek olan virusun titrasyonu belirlenmiş durumda (60 mm çapında hücre kültür plağına 50-100 PFU)
- Hücre kültürüne katılaştırıcı olarak agaroz eklenir
- Hücre kültürü plaklarına artan konsantrasyonlarda seri olarak ilaç eklenir
- Kontrol plağına kıyasla plak sayısında %50 azalmaya yol açan en düşük ilaç konsantrasyonu (IC50) belirlenir
- ACV için $\geq 2 \mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyon sınır değeri (break point) kullanılır



Boya alma (dye uptake) testi

- Daha çok HSV için kullanılır
- Nötral kırmızı gibi bir vital boyanın canlı hücreler tarafından alınıp ölü hücreler tarafından alınmamasına esasına dayanır
- HSV ile infeksiyondan sonra infekte hücrelerin boya alma oranı infekte edilmemiş hücrelerinki ile karşılaştırılır
- Daha yüksek HSV inokulumları (500 PFU/ml) kullanılır
- Canlı hücrelerce bağlanmış olan boya etanol ile elüe edilir ve kolorimetrik olarak ölçülür
- ACV IC50 değeri PRA ile elde edilenden 3-5 kat daha yüksektir
- Yarı otomatik hale getirilebilir ve çok sayıda suş test edilebilir
- Minör dirençli popülasyonlar saptanabilir
- Görece maliyeti daha yüksek ve hücre tabakası üzerinde boya çökeltileri olabilir

Diğer fenotipik testler

- ELISA
- Flowsitometri
- *Yield reduction assay*
- *Plaque autoradiography*

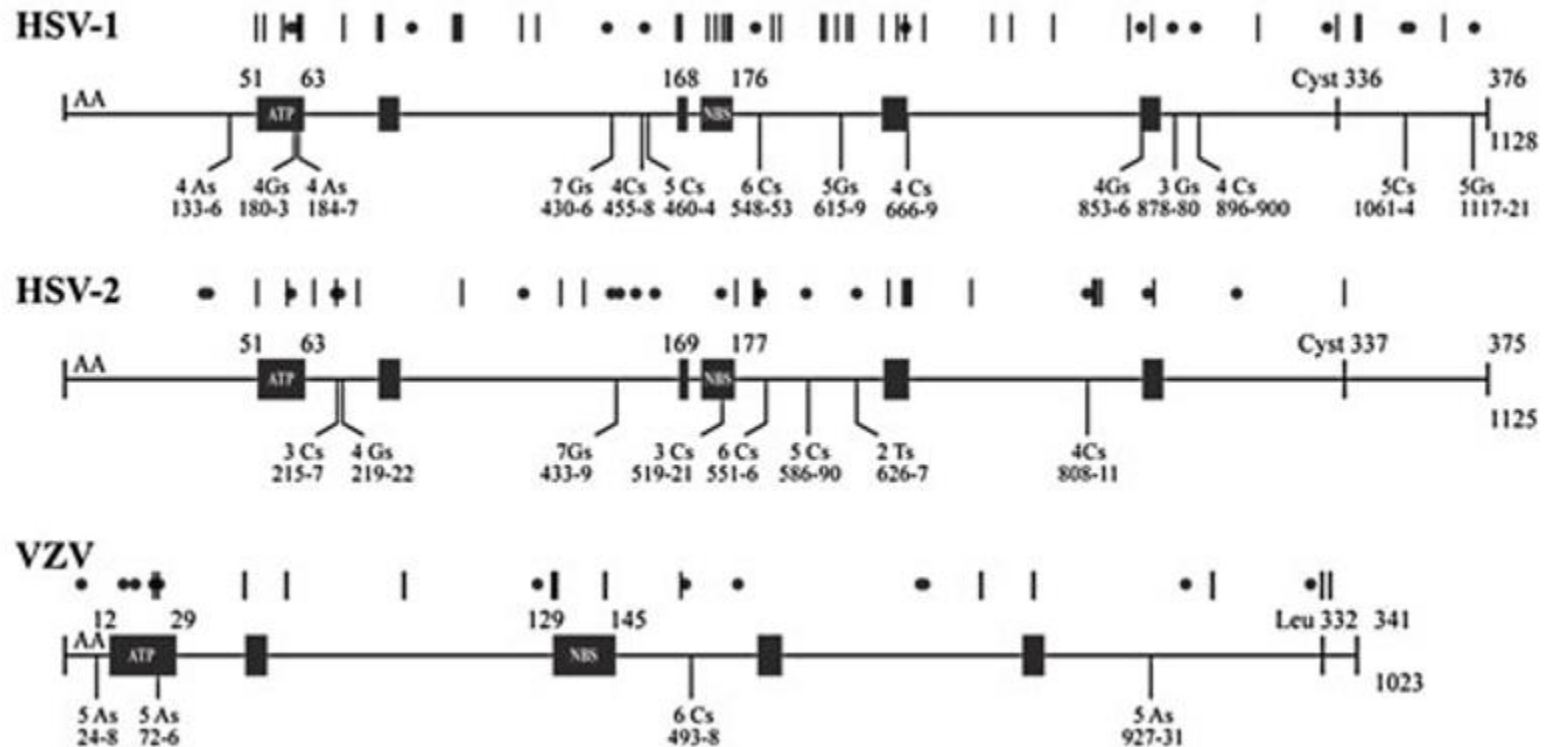
Genotipik direnç testleri

- ACV direncinin %95'inden TK genindeki okuma çerçevesi kaymasına ya da amino asit değişikliklerine yol açan mutasyonlar sorumlu (UL23, 1130 bp, 376 aa)
- Geri kalanından ise DNA polimerazdaki amino asit değişikliklerine yol açan mutasyonlar sorumludur (UL30; HSV-1, 3707 bp, 1235 aa; HSV-2, 3722 bp, 1240 aa)
- TK ve DNA Pol genlerindeki polimorfizmlerden dolayı genotipik testlerin yorumlanması güç ve dirençle ilişkili mutasyonların önceden belirlenmiş olması gerekir (*marker transfer assay*)

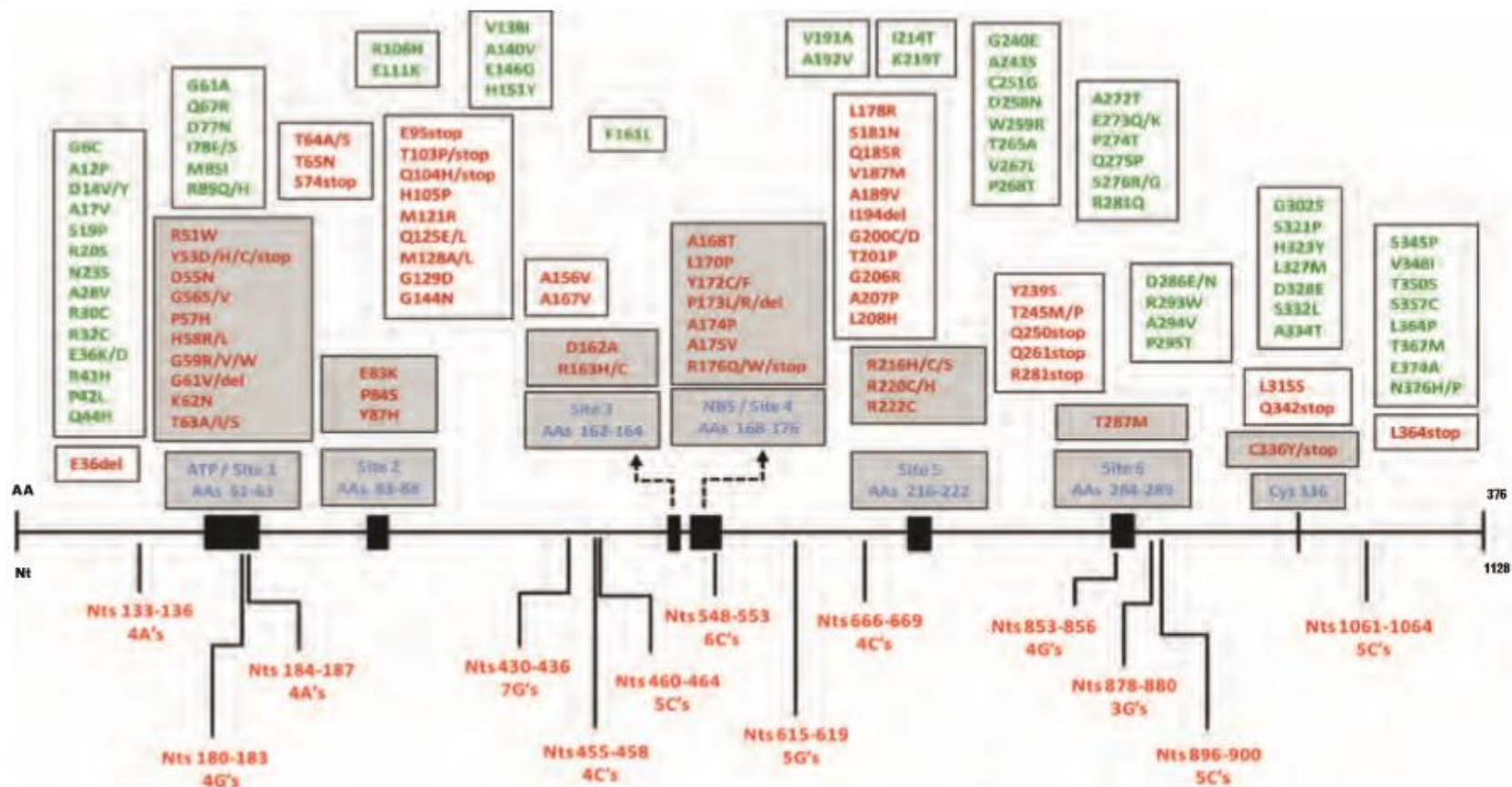
TABLE 2. Primers used for amplification and sequencing of HSV-2 UL23 and UL30 genes

Target gene	Function	Name	Sequence (5'→3') ^a
UL23	First-round PCR (outer primers)	TK2-F1	F: GTACCCACGGCCAAAGAG
		TK1-R1	R: CGAATTCGAACACGCAGAT
	Second-round PCR (inner primers)	TK2-F2	F: CTATCGGAGGCCCTTTGTTG
		TK2-R2	R: CGAGGTCCACTTCGCATATT
	Sequence reaction	TK2-A	R: ATCGAGGACACGCTGTTTG
		TK2-B	F: AAGACCCAGGCCAAAATGTG
		TK2-C	R: AGCGCCAGATAACAATGAG
		TK2-D	F: CCGATATGAGGAGCCAAAAC
		+ TK2-F2 and TK2-R2	
UL30	First-round PCR (outer primers)	POL2-F1	F: GACACCACACACTGGCTCTC
		POL2-R1	R: AGACGCAACGCAGAGAAAC
	Second-round PCR (inner primers)	POL2-F2	F: ATCCCACCCGAGCTGTT
		POL2-R2	R: GTCGGCCGCAGACATTTAT
	Sequence reaction	POL2-A	R: TACACGTGGAAGACGGTGAC
		POL2-B	F: CGCCCTAAGGTGTACTGC
		POL2-C	R: CCCCTCGTACTTCTGATCG
		POL2-D	F: ACTTCGAGGCGGAGGTG
		POL2-E	R: ATCCGAGCGAAAACAGGAG
		POL2-F	F: GGAAGACCTCGTCATCCAGA
		POL2-G	R: GATGTCGGGTAGCTCAGAT
		POL2-H	F: CCGACAAGGTCAAACCTCC
		POL2-I	R: AGGCTGGCAAAGTCAAACAC
		POL2-J	F: GATAAGGACGACGACGAGGA
		POL2-K	R: CCAGCAGCTGATCGAACTC
		POL2-L	F: GGTGCAGCACGGTCTTCT
		POL2-M	R: GATGGGCGTCTACGAGGA
		POL2-N	F: CTGGTGCGCAAAACAAC
		POL2-O	R: CCAGCAGGTGCGAGAAGTA
		+ POL2-F2 and POL2-R2	

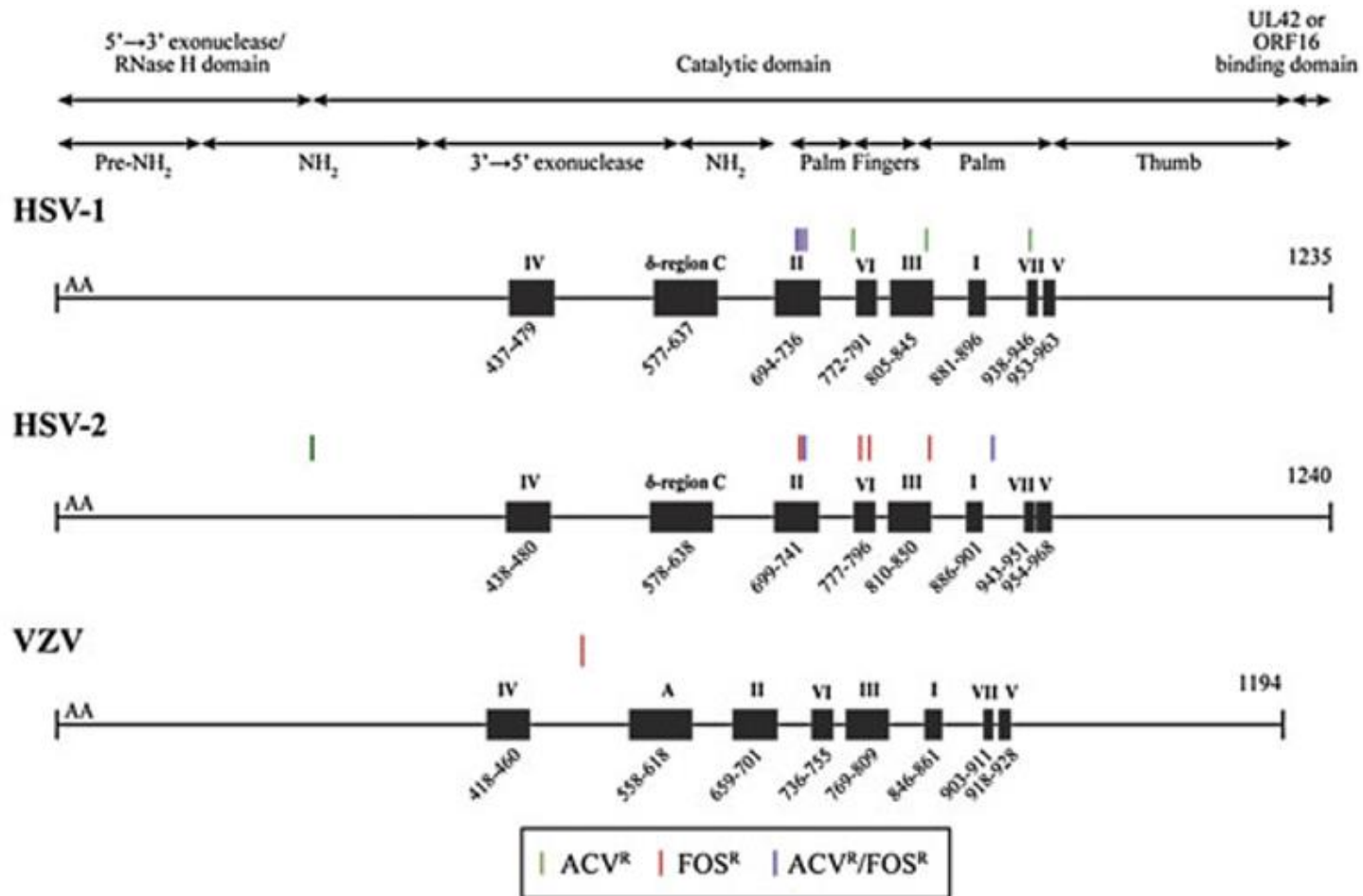
TK mutasyonları



(a)



DNA polimeraz mutasyonları



- Tedaviye yanıtızsız HSV infeksiyonları bağışıklık sorunu olmayan kişilerde genellikle rekürrent genital herpes, keratit ya da ensefalit hastalarıdır.
- Bağışıklık sorunu olmayanlarda ACV direnci %0.1-%0.6 arasında bildirilirken; bağışıklık sorunu olanlarda bu oran genelde %3.5 ila %10 arasında değışmekle birlikte daha yüksek oranlara çıkabilmektedir.
- Normal kişilerde HSV keratitlerinde de direnç %6 dolayında olabilmektedir
- Allojenik KIT alıcılarında %47'ye kadar çıkabilen direnç daha ağır ve yaygın mukozal hastalığa ve disseminasyona yol açmaktadır
- Bağışıklığı baskılanmış hastalarda bağışıklığın baskılanma düzeyi ve ACV uygulama süresi risk faktörleridir
- Epizodik ACV tedavisi, sürekli baskılayıcı ACV tedavisine göre direnç gelişimi açısından daha risklidir
- Primer VZV infeksiyonları ya da bağışıklık sorunu olmayanlardaki zona olgularında ACV direnci bildirilmemiştir; hematoonkoloji hastalarında ise %27 düzeyinde bildirilmiştir

Acyclovir-resistant genital herpes among persons attending sexually transmitted disease and human immunodeficiency virus clinics.

Reyes M¹, Shaik NS, Graber JM, Nisenbaum R, Wetherall NT, Fukuda K, Reeves WC; Task Force on Herpes Simplex Virus Resistance.

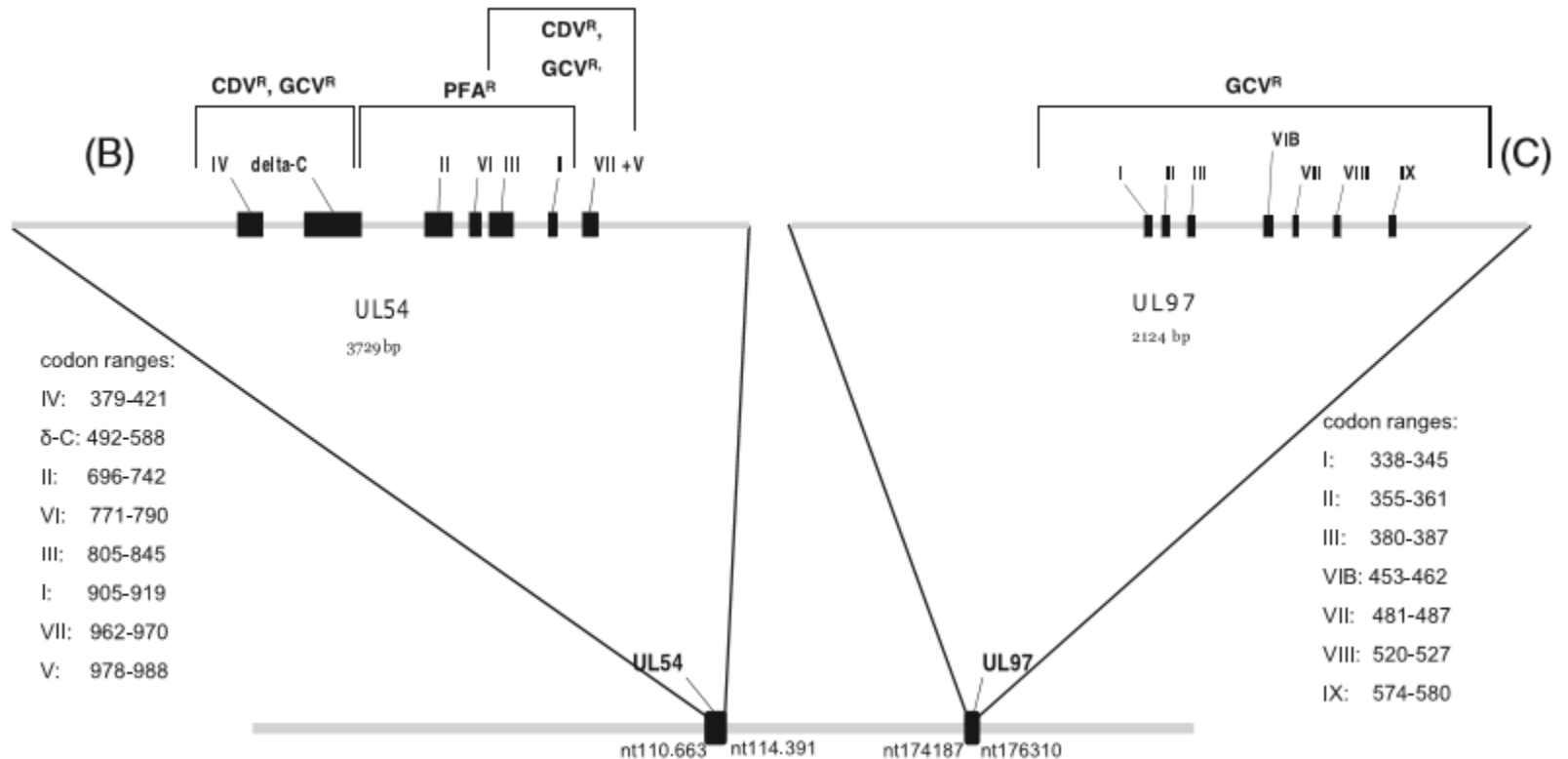
immunodeficiency virus (HIV) clinics in the United States between October 1996 and April 1998. We conducted standardized interviews of all consenting patients. Lesions were cultured, and isolates were typed as herpes simplex virus (HSV) 1 or HSV-2 and tested for acyclovir sensitivity (using a 50% inhibitory concentration of 2 µg/mL) by plaque reduction, which was independently confirmed.

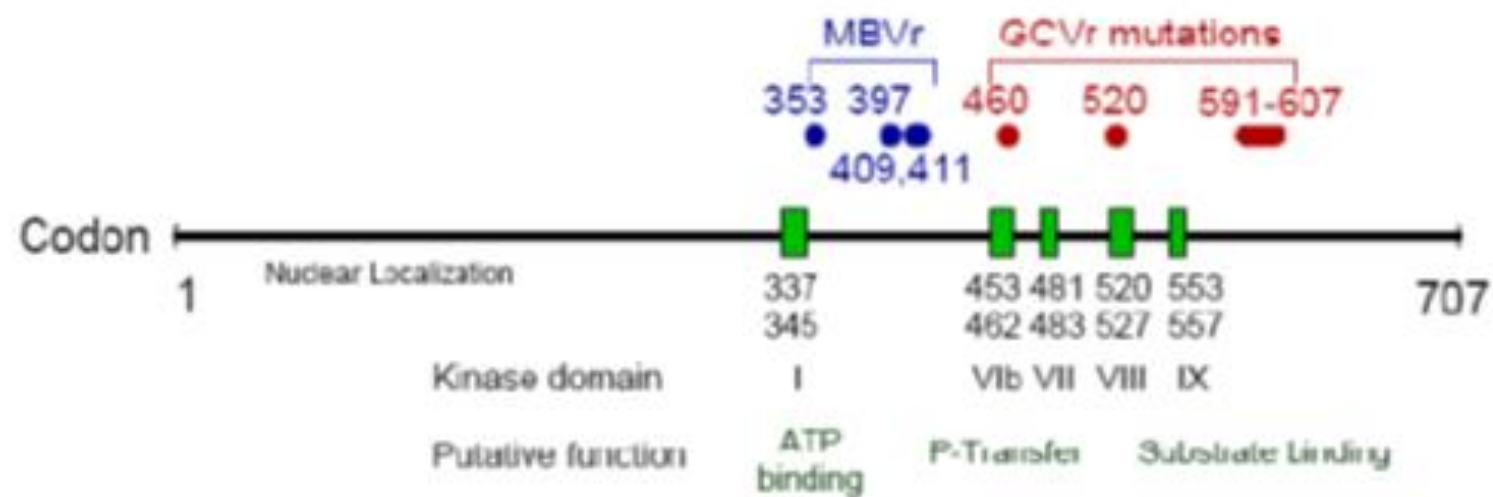
Results Herpes simplex virus was isolated from 2088 of 3602 patients, and 90.2% of isolates were HSV-2. Fifteen isolates, all HSV-2, were acyclovir resistant. Three (0.18%) of 1644 HIV-negative patients had acyclovir-resistant isolates (95% confidence interval [CI], 0.04%-0.5%); resistance was associated with oral ($P<.006$) and topical ($P<.001$) acyclovir use. Twelve (5.3%) of 226 HIV-positive patients yielded resistant HSV isolates (95% CI, 2.8%-9.1%); resistance was associated with oral acyclovir use ($P<.001$), duration of the current episode ($P<.001$), history of recurrent genital herpes ($P<.01$), and low CD4 cell count ($P<.05$).

CMV'de direnç

Dissemine CMV infeksiyonlarında tedavi: Gansiklovir, siddofovir ya da foskarnet

Direncin %90'ından fazlasından UL97'deki mutasyonlar sorumludur





Risk grupları ve faktörleri

Risk grupları:

- AIDS hastaları
- Transplant alıcıları
- Bağışıklığı baskılanmışlar
- İntrauterin CMV enfeksiyonu gelişmiş yenidoğanlar

Transplant alıcılarında:

- Alıcının ve donörün serolojik durumu
- Transplant tipi
- Bağışıklığın baskılanma düzeyi

Uzun süreli Tedavide CMV'de direnç gelişme olasılığı

Long term therapy:

HIV-infection (AIDS)	2%	> 3 months
	9%	9 months
transplantation, general	10%	
lung transplantation, D+/R-	30%	(>2 months)
kidney-/liver transplantation	<10%	

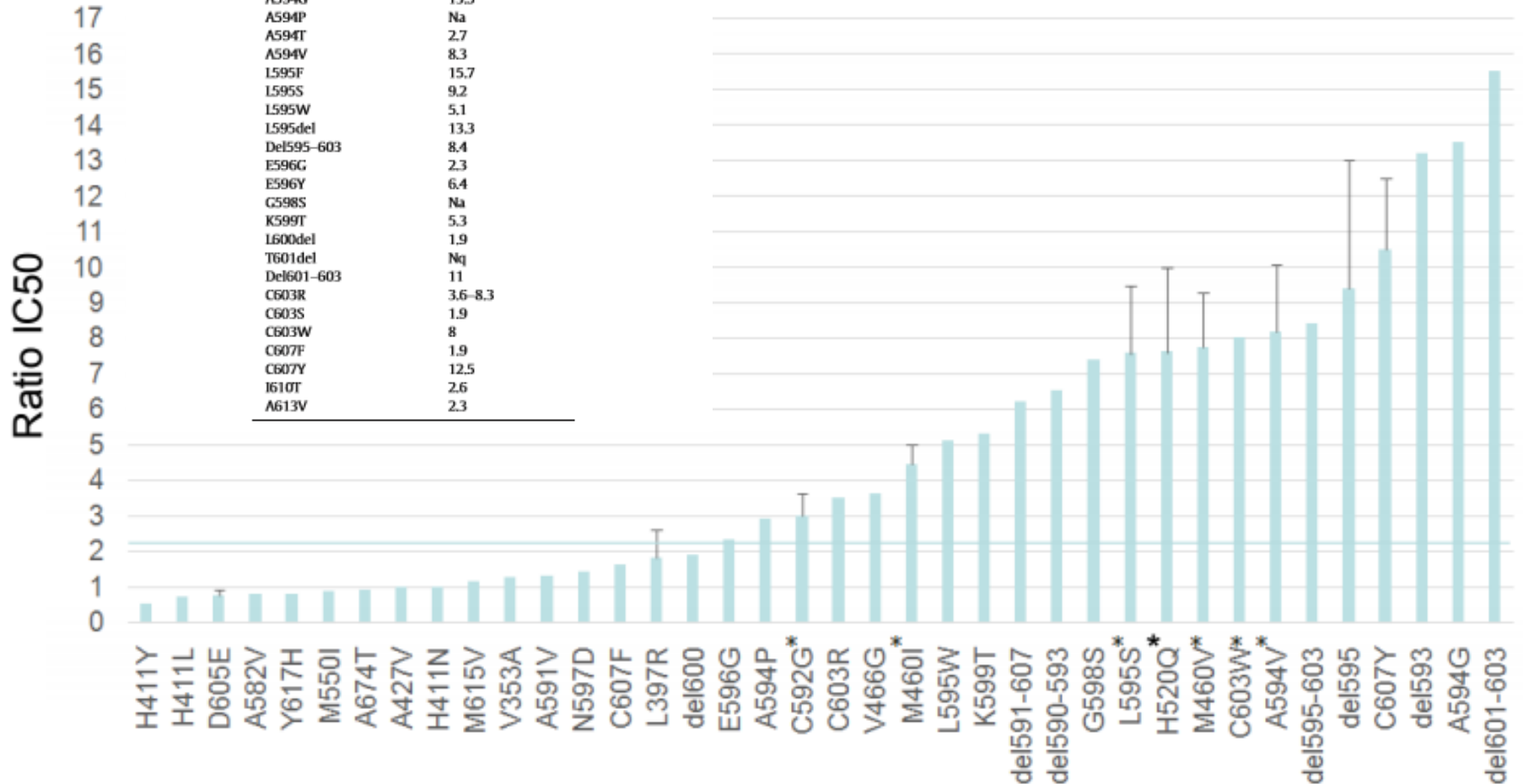
Gansiklovir direncinin saptanmasında kullanılan genotipik yöntemler

- DNA dizi analizi (Sanger)
- NGS
- RFLP
- Real-time PCR

Database: <https://www.informatik.uni-ulm.de/ni/staff/HKestler/hcmv/>

Marker transfer assay: UL97 ya da 54 PCR ile çoğaltıldıktan sonra standart kökene kotransfeksiyon → PRA ile fenotipik direnç tayini

Mutasyonların Etkileri



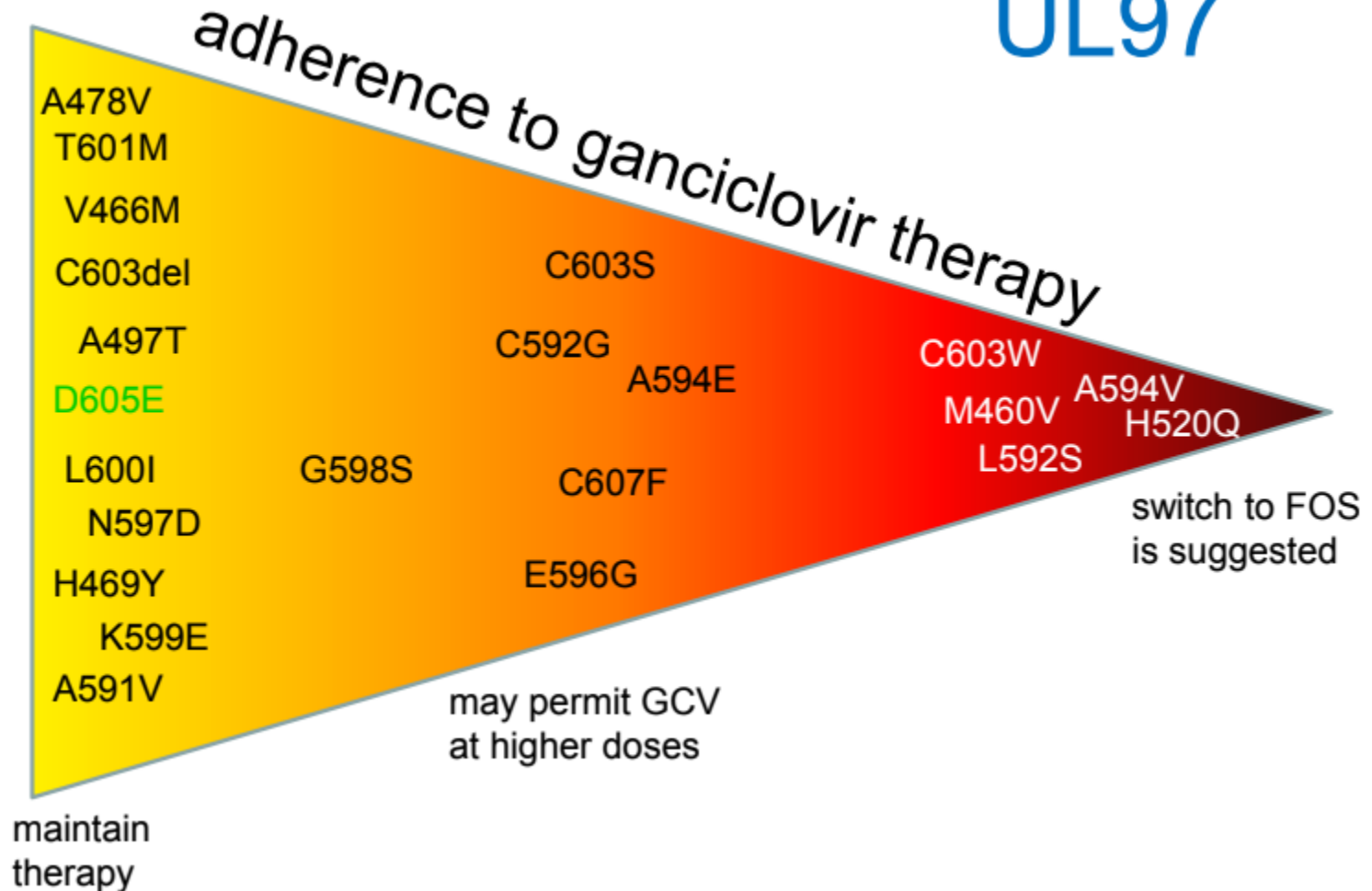
* >85% using Genotypic resistance assay

Resistance mutations in the ULS4 gene confirmed by Marker Transfer. Resistance ratios are marked in bold numbers.

Mutation	GCV ratio	PFA ratio	CDV ratio	References
D301N	2.6	0.5	3	[74]
N408D	4.9	1.3	5.6	[41]
N408K	4.2	0.7	21	[75]
N408S	3.1	Nd	7.5	[92]
N410K	2.9	0.8	3	[74]
F412C	4.2	1.2	18	[76]
F412V	4.3	1.1	15.5	[41]
F412L	4.6	1.1×	9.4×	[93]
F412S	5.3	0.8×	13×	[93]
D413A	6.5	0.8	11	[77]
D413E	4.8	0.8	4.3	[74,91]
P488R	3.5	Nd	7.9	[93]
N495K	1.1	3.4	1.1	[77]
L501I	6	1.4	9.1	[41]
T503I	2.9	0.5	6.1	[74]
K513E	5	1.4	9.1	[41]
K513N	6	1.1	12.5	[78]
D515E	2.4	1.1	1.6	[73]
L516R	2.1	0.8	5.1	[74]
I521T	3.1	0.9	3.9	[79]
P522A	3	1	4.1	[79]
P522S	3.1	1.1	3.6	[41]
C539R	3.2	Nd	13.3	[93]
L545S	3.5	1.2	9.1	[41]
L545W	5.9	1.3×	6.3×	[93]
Q578H	3.3	4.5	2.3	[93]
Q578L	1.9	3.0	0.8	[93]
D588E	1.3	2.3	1.1	[41,81]
D588N	3.8	3.2–9	2.7	[80]
T700A	0.9	4.7	1.5	[82]
V715M	1	5.5	1.1	[82]
E756D	1.2	3.4	0.7	[74]
E756K	3.5	>8	2.2	[74,91]
E756Q	1.7	4.3	1	[83]
L776M	2.5	3.5	1	[84]
V781I	1–4	4–5.2	1.2	[41,80]
V787L	2.4	4.1	1	[83]
L802M	1.1–3.5	3.2–10.8	0.9–1.8	[41,76]
K805Q	1	0.18	2.2	[41]
A809V	2.6	6.3	1.7	[85]
V812L	2.5	2.9	3.2	[78]
T813S	2.5	4.9	2.7	[86]
T821I	4.5	21	1.9	[41]
A834P	5.4	6.4	3	[75]
T838A	1.8	2.4	0.8	[81]
G841A	3.2	4.3	2.6	[86]
De881–982	8.3	3.6	2.8	[87]
A987G	5.3	1.2	11.3	[88]

Tedavi Uyumu ve Direnç

UL97



Ganciclovir-resistant cytomegalovirus encephalitis in a hematopoietic stem cell transplant recipient

Authors

[Authors and affiliations](#)

Ferhat Arslan , Fehmi Tabak, Emin Avşar, Kenan Midilli, Ali Mert, Resat Ozaras, Teoman Soysal, Recep Ozturk, Burhan Ferhanoglu

Case Report

Received: 29 October 2009 | Accepted: 15 January 2010

153

Downloads

5

Citations

Abstract

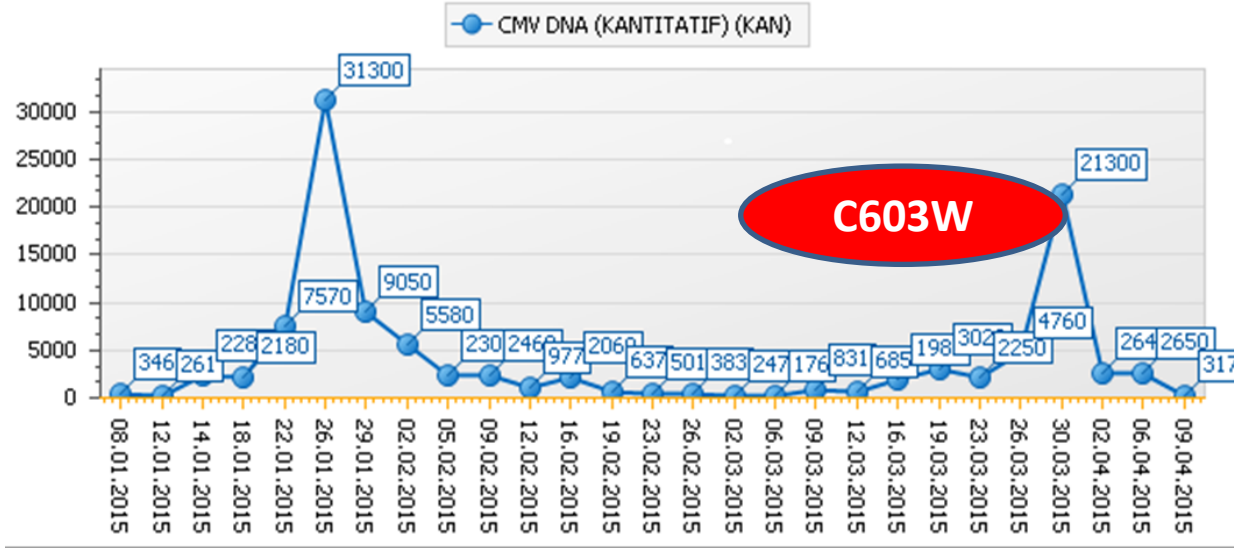
We describe a 41-year-old patient, who upon receiving a bone marrow transplant in order to treat chronic myeloid leukemia, developed cytomegalovirus (CMV) retinitis and encephalitis under the ganciclovir maintenance treatment. Analysis of sequential viral isolates recovered from the patient's cerebrospinal fluid and blood showed CMV DNA with a UL97 mutation (M460V) known to confer ganciclovir resistance. Foscarnet resistance mutations were not found. Although therapy was switched to foscarnet when ganciclovir resistance was suspected, the patient was lost on posttransplant day 200.

Arslan ve ark.	HKHN (CMV ensefaliti)	UL97	M46OV	J <u>Nerovirol</u>	2010
Zeytinoğlu ve ark.	<u>renal transplant alıcıları</u>	UL 97	YOK	7. UTMMK	2012
Zeytinoğlu ve ark.	kalp nakli alıcısı	UL97	C607F	2. UKMK	2013
Gökahmetoğlu ve ark.	<u>immun yetmezlikli</u>	UL97	M46OV	<u>Mikrobiyol Bul</u>	2015
Zeytinoğlu ve ark.	böbrek nakli alıcısı, HKHN	UL97	A594 V, C603W	J <u>Immunol Clin Mic</u>	2016

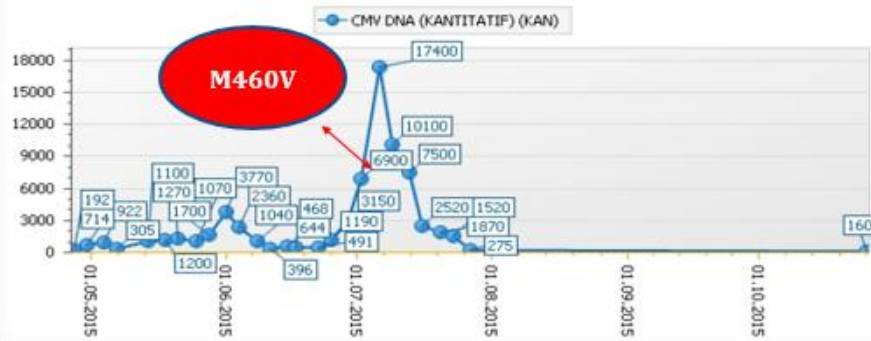
- Kayseri Gansiklovir direnci 33 hastadan elde edilen 38 örneğin birinde (C592G) mutasyonu saptandı

Olgular	Tanı	Nakil Tipi	CMV SEROLOJİ	Direnç (UL97)	Tedavi	Klinik	Prognoz
Olgu 1	Relaps ALL	AKHT MUD 9/10 (kemik iliği)	Pozitif/Pozitif	C603W (Dirençli)	FOS+GCV	pnömoni	Ex
Olgu 2	Kombine immün yetmezlik	AKHT MUD 5/6 (Kordon Kanı)	Negatif/Negatif	D605E (Duyarlı)	FOS+GCV	Akut Cilt ve GIS GVHD	Ex
Olgu 3	Orak Hücreli Anemi	Haploidentik KIT10/10 (Kemik iliği)	Pozitif/Pozitif	1474T, F499S, V559A	GCV	GIS GVHD	Sağ
Olgu 4	Kombine immün yetmezlik	AKHT MUD 5/6 (Kordon Kanı)	Pozitif/Negatif	C592G (Dirençli)	FOS	Pnömoni	Ex
Olgu 5	Ağır kombine immün yetmezlik	AKHT MUD 10/10 (Kemik iliği)	Pozitif/Negatif	H520Q (Dirençli)	FOS+GCV	CMV hastalığı Alt GIS GVHD	Ex
Olgu 6	Hemofagositik Lenfositik oz (HLH)	AKHT MUD 9/10 (Kemik iliği)	Pozitif/Pozitif	M460V (Dirençli)	GCV	GIS GVHD	Sağ
Olgu 7	Fanconi Aplastik Anemi	AKHT MUD 9/10 (Kemik iliği)	Pozitif/Pozitif	A594T (Dirençli)	GCV	Cilt, GIS GVHD	Sağ

CMV DNA (KANTITATIF) (KAN) ADLI TEST SONUÇ GRAFIĞİ



CMV DNA (KANTITATIF) (KAN) ADLI TEST SONUÇ GRAFIĞİ



CMV DNA (KANTITATIF) (KAN) ADLI TEST SONUÇ GRAFIĞİ

