

Türk

Klinik Laboratuvar

TURKISH JOURNAL of CLINICAL LABORATORY

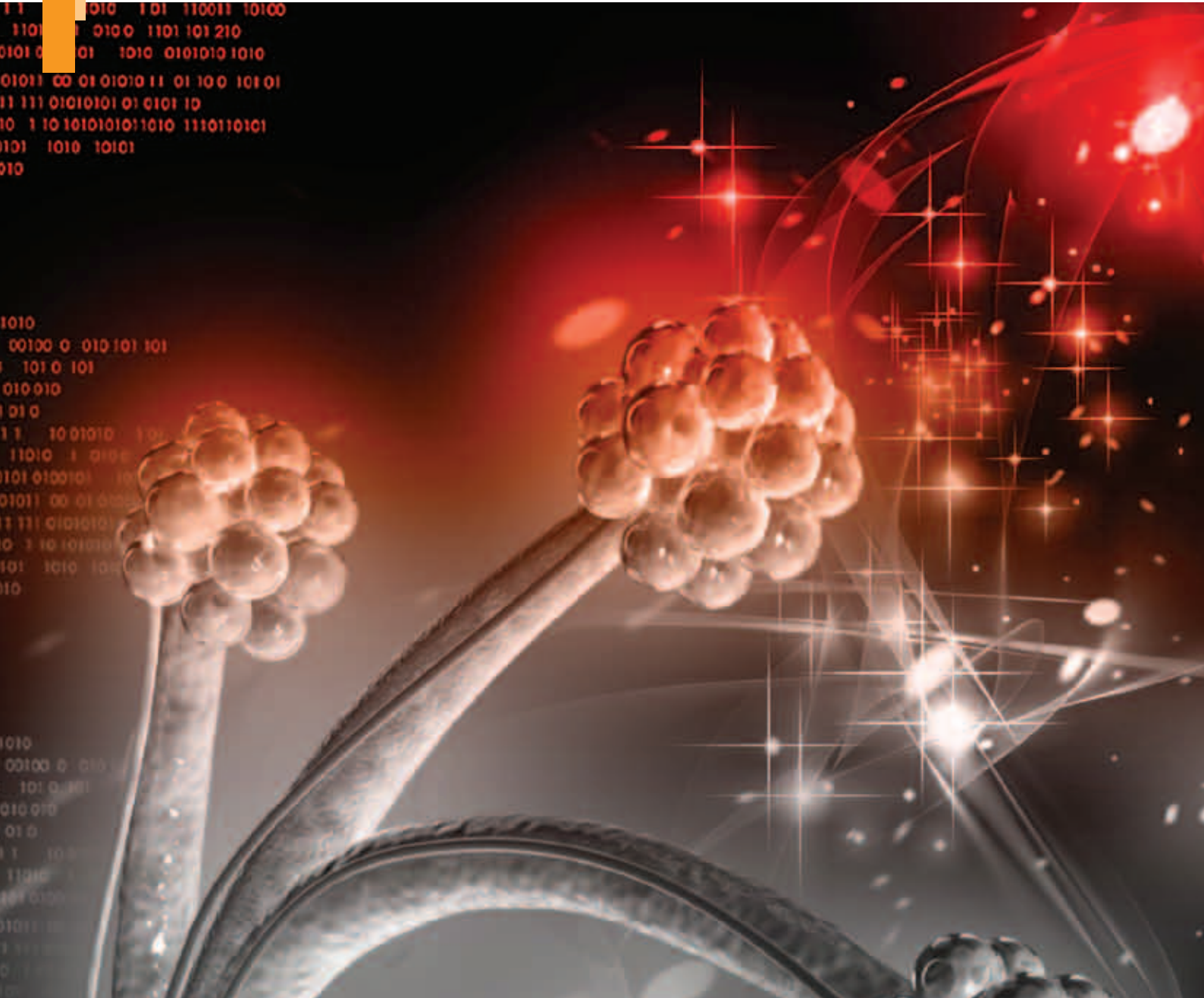
Dergisi



3 Ayda Bir Yayınlanan Bilimsel Tıp Dergisi

ISSN: 1309-7237

Ağustos 2011 Cilt:2 Sayı:3





Hedef Kitlenize UlaŐmanın Yolu Etkili Reklamdan Geçer...

Bayındır 2 Sokak. No:63/12
Kocatepe - ANKARA
Tel: 418 40 77 - Faks: 418 40 67
www.dntortadoguyayincilik.com



TÜRK KLİNİK LABORATUVAR DERGİSİ

TURKISH JOURNAL of CLINICAL LABORATORY

TÜRK KLİNİK LABORATUVAR DERGİSİ - TURKISH JOURNAL of CLINICAL LABORATORY

AĞUSTOS 2011 CİLT:2 SAYI:3 ÜÇ AYDA BİR YAYINLANIR/ AUGUST 2011 VOLUME :2 ISSUE: 3

DERGİ ABONELİK ÜCRETİ: 40 TL (4 SAYI)

ONURSAL EDITÖR / HONORARY EDITOR : Op. Dr. Sadi KAYA

BAŞ EDITÖR / EDITOR IN-CHIEF : Prof. Dr. Mustafa ALTINBAŞ

EDITÖR/EDITOR IN-CHIEF : Prof. Dr. Ali Pekcan DEMİRÖZ

EDITÖR YARDIMCISI/CO EDITOR IN CHIEF : Doç. Dr. Salih CESUR
Mik. Dr. İsmail CEYHAN

BÖLÜM EDITÖRLERİ VE YARDIMCILARI - SECTION EDITORS & SECTION CO-EDITORS

Biyokimya ve Klinik Biyokimya (Tıbbi Biyokimya)

Doç. Dr. Doğan YÜCEL Doç. Dr. Metin YILDIRIMKAYA

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji (Tıbbi Mikrobiyoloji)

Prof. Dr. Nuri KIRAZ Uz. Dr. Metin ÖZSOY

Patoloji

Doç. Dr. Hüseyin ÜSTÜN Uz. Dr. Muzaffer ÇAYDERE

Radyoloji

Prof. Dr. Sedat IŞIK Prof. Dr. Mustafa KARAOĞLAN

Nükleer Tıp

Prof. Dr. Nahide GÖKÇORA Prof. Dr. Metin KIR

Toksikoloji

Prof. Dr. Hamit HANCI Uz. Dr. Selçuk YAKIŞTIRAN

İmtiyaz Sahibi : DNT ORTADOĞU YAYINCILIK A.Ş. adına Dr. Eyüp ÖZEREN

Genel Koordinatör : Uğur C. SEVİM

Sorumlu Yazı İşl. Müd.: Dr. İsmail CEYHAN

Genel Müdür : Aslı ÇALIŞKAN

Yayına Hazırlayan : DNT ORTADOĞU YAYINCILIK A.Ş.

Bayındır 2 Sok. No: 63/12 Kızılay - ANKARA

Tel: (0312) 418 40 77 • Faks: (0312) 418 40 67

www.dntortadoguyayincilik.com • e-posta: bilgi@ dntortadoguyayincilik.com

Baskı : Ateş Basım Hizmetleri Tel: 341 42 88



DEREN LABORATUVARLARI

Merkez :
Büklüm Sokak No: 53 (Giriş katı)
Kavaklıdere / ANKARA
Tel: 0.312 466 33 55 (pbx)
Fax: 0.312 466 33 59

Şube :
Cinnah Caddesi No: 35/10
Çankaya / ANKARA
Tel: 0.312 438 43 55 (pbx)
Fax: 0.312 438 43 58

www.derenlab.com

TÜRK KLİNİK LABORATUVAR DERGİSİ



TURKISH JOURNAL of CLINICAL LABORATORY

DANIŞMA KURULU / EDITORIAL BOARD

Dr. Yetkin AĞAÇKIRAN

Dr. Hüseyin AKAN

Dr. Yasemin AKÇAY

Dr. Recep AKDUR

Dr. Nevzat ALKAN

Dr. Murat ALPER

Dr. Mustafa ALTINDIŞ

Dr. Tülin ARAS

Dr. Nurettin ARDIÇ

Dr. Murat ARGON

Dr. Diler ASLAN

Dr. Gönül ASLAN

Dr. Sema AŞKIN

Dr. Rajae El AOUAD

Dr. Faruk AYDIN

Dr. Bahar BOYDAK

Dr. Hürrem BODUR

Dr. Salih CENGİZ

Dr. Namık DELİBAŞ

Dr. Dilaver DEMİREL

Dr. Salim DEMİRCİ

Dr. İlker DURAK

Dr. Rıza DURMAZ

Dr. Ahmet DOSTBİL

Dr. Kaya EMERK

Dr. Özcan EREL

Dr. Mikhail EROPKIN

Dr. Mustafa ERTEK

Dr. Mehmet ERYILMAZ

Dr. Lanfranco FATTORINI

Dr. Paşa GÖKTAŞ

Dr. Zeynep GÜLAY

Dr. Feyzullah GÜMÜŞLÜ

Dr. Murat GÜNAYDIN

Dr. Selim GÜNGÖR

Dr. Nezahat GÜRLER

Dr. Adalat HASANOV

Dr. Mustafa İLHAN

Dr. Seyed Mohammad JAZAYERİ

Dr. Arzu KANIK

Dr. Lale KARABIYIK

Dr. Nevzat KARABULUT

Dr. Alp KARADEMİR

Dr. İbrahim KARAHAN

Dr. Uğur KAŞAR

Dr. Muhammad Amanullah KHAN

Dr. Mehmet KOÇ

Dr. Suha KOPARAL

Dr. Meliha KORKMAZ

Dr. Altay Suroy KOSOVA

Dr. Mustafa KULA

Dr. Sezin KULAÇOĞLU

Dr. Halil KURT

Dr. Özlem KÜÇÜK

Dr. Yahya LALELİ

Dr. Candan MEMİŞ

Dr. Sayoki G. MFINANGA

Dr. Jamal MUSAYEV

Dr. Elmas ÖĞÜŞ

Dr. Hamdi ÖĞÜŞ

Dr. Yusuf ÖZBEL

Dr. Şeref ÖZKARA

Dr. Figen ÖZTÜRK

Dr. Eşref PAŞAOĞLU

Dr. Janusz Tadeusz PAWESKA

Dr. İrfan PEKSOY

Dr. Azis PLOLLZHANI

Dr. Pathom SAWANPANYALERT

Dr. Selda SEÇKİN

Dr. Işıl SOYUER

Dr. Nedim SULTAN

Dr. Kadirhan SUNGUROĞLU

Dr. Ahmet TUTUŞ

Dr. Gülnur TARHAN

Dr. Fikriye URAS

Dr. Neşe Nur USER

Dr. Alp USUBÜTÜN

Dr. Ramazan UZUN

Dr. Selçuk YAKIŞTIRAN

Dr. Nezih YILMAZ

Doç. Dr. Namık DELİBAŞ

İÇİNDEKİLER

INDEX

BAŞ EDITÖRDEN

Orjinal Araştırma (Original Article)

- Akciğer Kaynaklı ve Akciğer Dışı Klinik Örneklerde Mycobacterium tuberculosis'in Hızlı Tanısı İçin Artus® M. tuberculosis Rotor Gene (RG) Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Sisteminin Retrospektif Değerlendirmesi.....92**
Retrospective Evaluation of the Artus® M. tuberculosis Rotor Gene (RG) Real Time PCR System for Rapid Diagnosis of Mycobacterium Tuberculosis in Pulmonary and Extrapulmonary Specimens

Gülnur TARHAN, Hülya ŞİMŞEK, Figen TURSUNOĞLU, Ahmet TOMBAK, Erol COŞKUN, Uğur GÜNER, İsmail CEYHAN

- Oktenidin Dihidrokloridin Ekinokok Protoskolekslerinin Viabilitesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi.....99**

The Effect of Octenidine Dihydrochloride on Viability of Echinococcus Protoscolex

Filiz DEMİREL, Bora ÖZEL, Funda DOĞRUMAN-AL, Nedim SULTAN

- Yemek Fabrikası Tarafından Üretilen Yemeğe Bağlı Gelişen Toplu Besin Zehirlenmesi.....104**
Mass Food Poisoning Outbreak Caused by the Produced Meal from the Same Food Company

Selçuk YAKIŞTIRAN, Ahmet AĞAÇAYAK, Özcan ÖZKAN

Derleme (Review)

- Akuaporinlerin Beyindeki Rollerini.....113**
The Role of Aquaporins in Brain

Gülfer ÖZTÜRK, Namık DELİBAŞ

- IS Elementleri118**

IS Elements

İsmail CEYHAN



Prof. Dr. Mustafa ALTINBAŞ

Baş Editör

Dışkapı Yıldırım Beyazıt
Eğitim Araştırma Hastanesi
Medikal Onkoloji Klinik Şefi

BAŞ EDİTÖRDEN

Türk Klinik Laboratuvar Dergisinin 2. yılındayız ve 3. sayımızla karşınıza çıktık.

Bu sayıda Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıklarından 5 ve Biyokimyadan 1 yazı yer almaktadır. Arzu ederiz ki her sayıda Radyolojiden, Nükleer Tıptan, Patolojiden farklı araştırma makaleleri olsun. Sizlerden gelen yazıları fazla beklememek için bazen aynı branştan yazılar bir arada yoğunlaşmaktadır.

Araştırma makaleleri yanında ilginç vaka sunumları, güncel derlemeler ve teknik yazılar kendisine Dergimizde yer bulabilmektedir. Laboratuvar branşlarımızdan farklı türden yazı beklediğimizi tekrar vurgulamak istiyorum.

Dergimiz hakkındaki görüş, eleştiri ve önerilerinizi her zaman bekleriz. Görüşleriniz bizim için değerlidir ve mutlaka karşılık bulur. Lütfen bize bu konularda yazın !

Ayrıca dergimizde görmek istediğiniz, güncel ve önemli addettiğiniz konularda Derleme ve Teknik yazı yayınlamak isteriz. Yine kendisinden Derleme arzu ettiğiniz kişiler varsa bize rahatlıkla bildirebilirsiniz. Biz adı zikredilen Hocalarımızla temasa geçip arzunuzu memnuniyetle yerine getiririz.

Çalıştığınız Kurum ve Bölümlerde, günlük iş akışında ve hizmette yaşadığınız sorunları da bize yazabilirsiniz. Çözümü hep birlikte idareci ve otör düzeyinde ele alıp çözme gayretinde oluruz. Mesleki icraat üzerine soru sormak isterseniz yine bize yazın ki gerekli ve uygun Kaynaklarından ve Hocalarından aldığımız cevabı sizlere iletebilelim.

Müteakip sayıda buluşmak dileği ile esen kalınız !

Prof. Dr. Mustafa ALTINBAŞ



Ortadoğu Grup
Sigorta

Bizden fiyat almadan **Hekim Sorumluluk Sigortanızı*** yaptırmayın!

* Hekim Sorumluluk Sigortasını yaptıran hekimlerimize trafik, kasko ve diğer tüm sigorta branşlarında özel fiyatlar.



Adres: İvedik Caddesi 338 / B-1 Yenimahalle - ANKARA
Tel: 0 (312) 343 02 52 & Faks: 0 (312) 343 02 42 Gsm: 0507 749 66 48-49
www.ortadogugrupsigorta.com.tr



ÖZEL ORTADOĞU
19 MAYIS HASTANESİ

Mutluluk Sağlıkla Başlar...

Tüm Branşlarda
Uzman Hekim Muayenesi
Ameliyathane
Tüm Radyoloji ve
Laboratuvar Tetkikleri

İletişim
478 28 28

Naci Çakır Mah. 761. Sokak No: 2 Dikmen / ANKARA
Tel: (0312) 478 28 28 • Faks: (0312) 479 93 40

Akciğer Kaynaklı ve Akciğer Dışı Klinik Örneklerde *Mycobacterium tuberculosis*'in Hızlı Tanısı İçin Artus® M. tuberculosis Rotor Gene (RG) Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Sisteminin Retrospektif Değerlendirmesi

Retrospective Evaluation of the Artus® M. tuberculosis Rotor Gene (RG) Real Time PCR System for Rapid Diagnosis of Mycobacterium tuberculosis in Pulmonary and Extrapulmonary Specimens

Gülnur TARHAN¹, Hülya ŞİMŞEK², Figen TURSUNOĞLU², Ahmet TOMBAK², Erol COŞKUN², Uğur GÜNER², İsmail CEYHAN²

¹Ahi Evran Üniversitesi, Kırşehir-TÜRKİYE

²Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığı, Ankara- TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 18.07.2011

Kabul Tarihi: 13.09.2011

Özet

Amaç: Bu çalışmanın amacı akciğer kaynaklı ve akciğer dışı klinik örneklerde *M.tuberculosis* complex (MTBC)'in hızlı tanısında gerçek zamanlı bir PZR sisteminin tanı yeteneğinin retrospektif olarak değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Toplam 1914 klinik örnek (1104 akciğer kaynaklı ve 810 akciğer dışı) Erlich-Ziehl Neelsen (EZN) yöntemi ile mikroskopi, Löwenstein Jensen(LJ) katı besiyerinde kültür ve Artus®M. tuberculosis RG gerçek zamanlı PZR sistemi ile değerlendirildi.

Bulgular: Kültür yöntemi altın standart olarak alındığında, PZR ve EZN boyama yönteminin duyarlılık, özgüllük, pozitif (PBD) ve negatif (NBD) belirleyicilik değeri sırası ile akciğer kaynaklı örnekler için %55, %97, %45, %98 ve %50, %97, %55, %97; akciğer diğer dışı klinik örnekler için %55, %99, %76, %98 ve %39, %99,%93,%97 olarak bulundu.

Sonuç: Kültür referans standart olarak kabul edildiğinde, PZR ve EZN boyama arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. Artus®M.tuberculosis RG PZR testinin, kültür yöntemine göre duyarlılığı daha düşük, bulundu. Bu nedenle PZR sistemi tüberkülozun klinik tanısında mutlaka kültür yöntemi ile birlikte kullanılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Gerçek zamanlı PZR, tüberküloz, tanı

Abstract

Aim: The purpose of this study was to assess the diagnostic performance of a real time PCR system in the rapid diagnosis of *M.tuberculosis* complex (MTBC) in pulmonary and extrapulmonary clinical samples as retrospectively.

Material and Method: A total of 1914 specimens (1104 pulmonary and 810 extrapulmonary) were tested using acid-fast stain, solid culture and Artus®M. tuberculosis Rotor Gene Real Time PCR.

Results: Using culture results as gold standard, the sensitivity, specificity, positive (PPV) and negative (NPV) predictive values of Artus®M. tuberculosis Rotor Gene Real Time PCR assay and EZN staining were found 55%,

97%, 45%, 98 % and 50%, 97%, 55%, 97 % for pulmonary samples, 55%, 99%, 76%, 98% and 39%, 99%, 93%, 97 % for extrapulmonary samples respectively.

Conclusions: There was no a major differences between the PCR and EZN staining results when the culture was accepted as reference standard. The Artus®M.tuberculosis RG Rotor Real Time PCR method is found to be less sensitive. Therefore, this PCR system should only be used in combination with culture results in the clinical diagnosis of tuberculosis.

Keywords: Real time PCR, tuberculosis, diagnosis

Giriş

Tüberküloz(TB) tanı ve tedavisindeki gelişmelere rağmen dünyada ve ülkemizde önemini koruyan enfeksiyon hastalıklarının başında gelmektedir. Hava yolu ile bulaşması nedeni ile toplum sağlığını tehdit eden bu hastalığın erken tanı ve tedavisi son derece önem taşımaktadır. Hastalığın tanısında mikrobiyolojik yöntemler altın standart olarak kabul edilmektedir. Bu amaçla geleneksel olarak kullanılan iki yöntem mikroskopi ve kültürdür. Ancak mikroskopi yönteminin duyarlılığı düşüktür. Kültür yöntemleri ile sonuç için 2-8 hafta gibi uzun zaman bir sürenin beklenmesi gerekmektedir. Bu nedenle erken tanıda direkt klinik örnekten duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek hızlı tanı yöntemlerinin kullanımı önemli bir gereksinimdir(1-3). Günümüzde bu amaçla direkt klinik örnekten etkenin saptanmasına yönelik çok sayıda moleküler yöntem ve ticari kit bulunmaktadır. Gerçek zamanlı PZR sistemleri son zamanlarda rutin tanı laboratuvarlarında klinik örneklerden *Mycobacterium tuberculosis* complex'inin hızlı tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır (4-8). Bu çalışmada laboratuvarımıza gönderilen akciğer kaynaklı ve akciğer dışı klinik örneklerde Artus® *M. tuberculosis* Rotor Gene gerçek zamanlı PZR Sistemi' nin *Mycobacterium tuberculosis* kompleksini tanımlamadaki duyarlılık ve özgüllüğünün retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Klinik örnekler

Bu çalışmada Şubat 2005- Nisan 2008 tarihleri arasında laboratuvarımıza tüberküloz hızlı tanısı amacı ile gönderilen toplam 1914 örnek (1104 akciğer, 810 akciğer dışı örnek) Rotor Gene Gerçek zamanlı PZR sistemi ile çalışıldı (Tablo 1). Akciğer örneklerinin 370'i balgam, 16'sı bronkoalveolar lavaj sıvısı (BAL), 718'i açlık mide sıvısı (AMS) iken; akciğer dışı örneklerin 183'ü idrar, 168'i beyin omurilik sıvısı (BOS), 65 'i plevra sıvısı, 96'sı periton sıvısı, 179'u biyopsi, 27'si sinoviyal sıvı, 46'sı abse, 1'i dışkı, 29'u perikard sıvısı, 14'ü aspirasyon sıvısı ve 2'si semen sıvısı idi.

Tablo 1: Çalışmaya alınan örneklerin dağılımı

Örnek Türü	Sayı	(%)
Balgam	370	19,33
BAL	16	0,84
AMS	718	37,51
İdrar	183	9,56
BOS	168	8,78
Plevra Sıvısı	65	3,40
Periton Sıvısı	96	5,02
Biyopsi	179	9,35
Sinovyal Sıvı	27	1,41
Abse	46	2,40
Dışkı	1	0,05
Perikard Sıvısı	29	1,52
Aspirasyon Sıvısı	14	0,73
Semen Sıvısı	2	0,10
Toplam	1914	100

Örneklerin İşlenmesi

Klinik örnekler, 50ml'lik konik tabanlı-vidalı kapaklı santrifüj tüplerinde toplandı. İdrar örnekleri ve steril kabul edilen örnekler santrifüj edildikten sonra, dipte kalan çökelti işlem için kullanıldı. Doku biyopsi örnekleri steril koşullarda parçalara ayrıldıktan sonra havanda ezildi. 50 ml santrifüj tüplerine alınarak işlem için hazır hale getirildi. Tüm örneklerle eşit hacimde %4 NaOH çözeltisinden eklendi. Vorteksleme işleminden sonra, oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi. Karışıma, son hacmi 50 ml olacak şekilde steril 0.067 M fosfat tampon çözeltisi (pH: 6.8) eklendi. 3.000Xg'de 15 dakika santrifüj edildi. Daha sonra üstte toplanan sıvı, dezenfektan içeren kaba boşaltıldı ve sediment 3 ml fosfat tampon ile yeniden sulandırıldıktan sonra vortekslenerek homojen hale getirildi. Hazırlanan süspansiyonların 1 ml'si PZR testinde kullanılmak üzere mik-

rosantrifüj tüplerine aktarıldı. Örnekler çalışılincaya kadar -20 °C'de saklandı. Süspansiyonların geriye kalan kısım kültür ve mikroskopi işlemleri için kullanıldı.

Kültür ve Mikroskopi

Kültür için her bir klinik örnekten hazırlanan süspansiyondan 200' er µl üç adet LJ besiyeri içeren tüplere ekildi. Steril vücut sıvılarına ait örneklerin hem doğrudan hem de işlenmiş süspansiyonlarından ekim yapıldı. Kültür tüpleri 37 °C'de 8 hafta boyunca inkübe edildi ve oluşan koloni görünümleri incelendi. Üreme saptanan örneklerin tür tanımlaması nitrat redüksiyonu, niasin, tiofen 2- karboksilik asit ve para nitro- benzoik asit yöntemleri ile yapıldı. Mikroskopi için yayma preparat hazırlanarak, EZN yöntemi ile boyandı.

Gerçek Zamanlı PZR Testi

Gerçek zamanlı PZR testi DNA izolasyonu ve amplifikasyonu olmak üzere iki aşamada gerçekleştirildi. DNA izolasyonunda QIAamp, DNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) kullanıldı. İzolasyon üretici firmanın önerilerine uygun olarak yapıldı. Amplifikasyon işleminde; *Mycobacterium tuberculosis* genomunun IS6110 gen bölgesine ait 162 bç uzunluğundaki DNA bölgesini amplifiye eden TBCP1 (5'- GAT CTC GTC CAG CGC CGC TTC G-3') ve TCBP2 (5'- ACC GAC GCC TAC GCT CGC AGG-3') primerleri kullanıldı.

Amplifikasyon işlemi 50 °C'de 2 dk ve 95 °C'de 10 dk başlangıç aşamasından sonra 95 °C'de 10 sn, 61,5 °C'de 1 dk olmak üzere 40 siklusta gerçekleştirildi. Amplifiye ürün, amplifikasyon işlemi sırasında floresans boya ile işaretli prob (FAM- GCT ACC CAC AGC CGG TTA GGT GCT GGT G-TAMRA) kullanılarak belirlendi. Üretici firmanın protokolüne (Artus® M. tuberculosis RG Real Time PCR, Valencia, Calif.) göre değerlendirme yapıldı. Çalışma sırasında çalışma alanı, pipetler ve diğer ekipman 1/ 10 oranında sulandırılmış sodyum hipoklorit (çamaşır suyu) solüsyonu ile dekontamine edildi.

Uyumsuz Sonuçların Analiz Edilmesi

Testin değerlendirmesi sırasında kültür yöntemi altın standart olarak kabul edildi. Kültür ile uyumsuz sonuçların değerlendirilmesi klinik veriler (anamnez, sempomlar, göğüs X-ray bulguları, tüberkülin deri testi ve ilaç kullanımı) ve hastadan alınan diğer örneklerin test sonuçlarına göre yapıldı.

İstatiksel Değerlendirme

Test performansının değerlendirilmesinde duyarlılık, öz-

güllük, pozitif ve negatif belirleyicilik değerleri kullanıldı. Kültür sonuçları referans standart olarak kabul edildi.

Sonuç

Çalışmada Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkez Başkanlığı Ulusal Tüberküloz Referans ve Araştırma Laboratuvarı'na Şubat 2005- Nisan 2008 tarihleri arasında tüberküloz hızlı tanısı amacı ile gönderilen 1914 örnek (1104 akciğer, 810 akciğer dışı örnek) gerçek zamanlı PZR ve mikroskopi (EZN) yöntemi ile karşılaştırmalı olarak değerlendirildi. Mikroskopi, kültür ve PZR testi pozitiflik oranı sırası ile; akciğer kaynaklı örneklerde % 2.26'sı (25/1104), %3.07'si (34/1104), % 3.80'i (42/1104) olarak bulundu. Bu oran akciğer dışı örneklerde sırası ile %1,97'si (16/810), % 4,56'sı (37/810), % 4,19'u (34/810) olarak bulundu (Tablo 2).

Tablo 2: Akciğer kaynaklı ve akciğer dışı klinik örneklerde mikroskopi, kültür ve PZR testi pozitiflik oranları

Örnek Grubu	Pozitiflik Oranı		
	Mikroskopi (EZN) Sayı (%)	Kültür (LJ) Sayı (%)	PZR Sayı (%)
Akciğer Kaynaklı (n:1104)	25 (2.26)	34(3.07)	42(3.80)
Akciğer Dışı (n:810)	16(1.97)	37(4.56)	34(4.19)
Toplam	41(2.14)	71(3.70)	76(3.97)

Her bir yöntemin örnek türüne göre doğru pozitif, doğru negatif, yalancı pozitif ve yalancı negatif oranları Tablo 3 ve Tablo 4'te gösterilmiştir.

**Akciğer Kaynaklı ve Akciğer Dışı Klinik Örneklerde Mycobacterium tuberculosis'in Hızlı Tanısı İçin
Artus® M. tuberculosis Rotor Gene (RG)
Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Sisteminin Retrospektif Değerlendirmesi**

Tablo 3: Akciğer kaynaklı ve akciğer dışı klinik örneklerde gerçek zamanlı PZR sonuçları

Örnek Türü	Örnek Sayısı	Gerçek Zamanlı PZR			
		Gerçek Pozitif	Gerçek Negatif	Yalancı Pozitif	Yalancı Negatif
Akciğer Kaynaklı					
Balgam	370	17	330	13	10
BAL	16	-	15	1	-
AMS	718	2	702	9	5
Toplam	1104	19	1047	23	15
Akciğer Dışı					
İdrar	183	3	178	1	1
BOS	168	1	159	3	5
Plevra Sıvısı	65	2	63	-	-
Periton Sıvısı	96	-	95	-	1
Biyopsi	179	3	165	6	5
Sinoviyal Sıvı	27	1	23	3	-
Abse	46	7	33	1	5
Dışkı	1	-	1	-	-
Perikard Sıvısı	29	1	25	2	1
Aspirasyon Sıvısı	14	-	12	-	2
Semen Sıvısı	2	2	-	-	-
Toplam	810	20	754	16	20
Genel Toplam	1914	39	1801	39	35

Çalışmada incelenen 370 balgam örneğinin 13'ü, AMS örneğinin 9'u PZR yöntemi ile yalancı pozitif olarak saptandı (Tablo 3). Bu oran mikroskopi testinde balgam örnekleri için 5, AMS örneklerinde 1 olarak belirlendi (Tablo IV). Balgam örneklerinde PZR testi pozitif, kültür negatif olan 4 hastanın, akciğer TB olarak tedavi alan hastalar olduğu saptandı. AMS' da PZR testi pozitif olan 9 hastanın 8'inde radyolojik ve diğer laboratuvar bulguları birlikte değerlendirildiğinde klinik olarak da tüberküloz olmadığı tespit edildi. Sadece 1 olgunun akciğer tüberküloz tedavisi alan bir hasta-ya ait olduğu saptandı.

Tablo 4: Akciğer kaynaklı ve akciğer dışı klinik örneklerde mikroskopi sonuçları

Örnek Türü	Örnek Sayısı	Gerçek Zamanlı PZR			
		Gerçek Pozitif	Gerçek Negatif	Yalancı Pozitif**	Yalancı Negatif***
Akciğer Kaynaklı					
Balgam	370	18	338	5	9
BAL	16	-	16	-	-
AMS	718	1	710	1	6
Toplam	1104	19	1064	6	15
Akciğer Dışı					
İdrar	183	2	179	-	2

Tablo 4: Akciğer kaynaklı ve akciğer dışı klinik örneklerde mikroskopi sonuçları (Devamı)

Örnek Türü	Örnek Sayısı	Gerçek Zamanlı PZR			
		Gerçek Pozitif	Gerçek Negatif	Yalancı Pozitif**	Yalancı Negatif***
BOS	168	1	161	1	5
Plevra Sıvısı	65	1	63	-	1
Periton Sıvısı	96	-	95	-	1
Biyopsi	179	2	171	-	6
Sinoviyal Sıvı	27	1	26	-	-
Abse	46	6	34	-	6
Dışkı	1	-	1	-	-
Perikard Sıvısı	29	1	27	-	1
Aspirasyon Sıvısı	14	1	12	-	1
Semen Sıvısı	2	-	2	-	-
Toplam	810	15	771	1	23
Genel Toplam	1914	34	1835	8	38

Kültür sonuçları referans olarak alındığında PZR ve mikroskopi testlerinin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif belirleyicilik değerleri Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5: Akciğer kaynaklı ve akciğer dışı klinik örneklerde PCR ve mikroskopi yöntemlerinin duyarlılık, özgüllük, pozitif belirleyicilik (PBD) ve negatif belirleyicilik (NBD) değerleri (%)

Örnek Türü	Yöntem	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	PBD (%)	NBD (%)
Akciğer Kaynaklı (n=1104)	PCR	55	97	45	98
	Mikroskopi	55	99	76	98
Akciğer Dışı (n=810)	PCR	50	97	55	97
	Mikroskopi	39	99	93	97

Akciğer kaynaklı örneklerde PZR ve mikroskopi testlerinin duyarlılığı her iki test içinde % 55 olarak saptandı. Bu oran akciğer dışı klinik örneklerde PZR testi için % 50 iken mikroskopi yöntemi için % 39 olarak bulundu. Akciğer ve akciğer dışı klinik örneklerin her ikisinde de özgüllük oranı PZR testi için % 97 iken, mikroskopi testi için % 99'du.

Tartışma

Tanı ve tedavisinde yaşanan sorunlar nedeni ile tüberküloz hala dünyayı tehdit eden enfeksiyon hastalıklarının başında gelmektedir. Bu hastalığın kontrolünde en önemli basamak erken ve doğru tanının konmasıdır. Tüm dünyada tüberküloz insidansının giderek artması ve çoklu ilaca dirençli olguların ortaya çıkışı, bu hastalığın erken tanısında daha hızlı ve daha duyarlı tanı yöntemlerinin kullanımını zorunlu hale getirmiştir. Bu amaçla MTBC tanısına özgül olarak geliştirilmiş otomatize ve yarı otomatize kit bazlı PZR sistemleri rutin tanı laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin duyarlılığı ve özgüllüğü

kullanılan sisteme göre değişiklik göstermektedir. Çeşitli çalışmalarda akciğer kaynaklı örneklerde, FDA onayı almış Cobas Amplicor MTB (CAmpMTB; Roche Diagnostic Systems, Inc., Branchburg, N.J.) ve Amplifiye Mycobacterium tuberculosis Direct Test (AMTDII; Gen-Probe, Inc., San Diego, Calif.) sistemlerinin MTBC'ni tanımlama duyarlılığı %55 ile %97 ve özgüllüğü %92 ile %100 arasında saptanmıştır (9-23). Test sistemlerinden alınan sonuçlar kullanılan yöntem, örnek kalitesi, deneyimli laboratuvar personeli vb. nedenlere bağlı olabildiği gibi çalışılan örnekteki basil miktarı, hastanın klinik durumu, hastadan alınan örneğin yayma pozitif veya negatif olma özelliğine göre değişmektedir. Tanaka ve ark ise TRC Rapid

M.TB Gerçek Zamanlı PCR sistemini kültür yöntemini referans olarak değerlendirdikleri çalışmalarında 1155 akciğer kaynaklı ve 420 akciğer dışı klinik örnekte testin duyarlılık ve özgüllüğünü sırası ile akciğer kaynaklı örnekler için %96.6 ve %99.9, akciğer dışı klinik örnekler için %87.5 ve 98.5 olarak bildirmiştir. Aynı çalışmada TRC testinin duyarlılığı yayma pozitif akciğer kaynaklı ve akciğer dışı örneklerde %100, akciğer kaynaklı yayma negatif örneklerde %88.9, akciğer dışı yayma negatif örneklerde %80 olarak bulunmuştur. Akciğer kaynaklı ve akciğer dışı klinik örneklerde test performansında anlamlı fark gözlenmemiştir (24). Drouillon ve ark'nın TRC yöntemi ile 548 akciğer kaynaklı ve 59 akciğer dışı klinik örneklerle yaptıkları çok merkezli çalışmalarında akciğer kaynaklı örneklerde TRC ve ARB boyama testinin duyarlılığı sırası ile % 86.8 ve %50.4, özgüllüğü sırası ile %97.5 ve %100 olarak saptanmıştır. Akciğer dışı klinik örneklerde TRC ve ARB boyama testinin duyarlılığı sırası ile % 83.3 ve %8.3, özgüllüğü sırası ile %95.8 ve %100 olarak bulunmuştur (25). Sunulan çalışmada 1104 akciğer kaynaklı ve 810 akciğer dışı klinik örnek mikroskopi, kültür ve PZR yöntemi ile değerlendirildi. Akciğer tüberküloz tanısı alan 1104 hastanın akciğer kaynaklı örneğin 34(%3.70)'ünde kültür pozitif bulunmuştur. Aynı örnek grubunda PZR ve mikroskopi testlerinin pozitiflik oranı sırası ile 42 (%3.80) ve 25(%2.26) olarak bulundu. Akciğer dışı 810 örneğin 37(4.56)'sinde kültür pozitif. Bu örnek grubunda PZR ve mikroskopi pozitiflik oranı sırası ile 34(%4.19) ve 37(%4.56) olarak bulundu. Çalışmamızda akciğer kaynaklı örneklerde PZR ve mikroskopi yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllüğü sırası ile PZR için %55, %97 ve mikroskopi için %55,%99 olarak saptandı. Akciğer dışı örneklerde ise duyarlılık ve özgüllük PZR için %50,%97 ve mikroskopi için %39,%99 olarak bulundu. PZR ve mikroskopi testi için saptadığımız duyarlılık oranları literatürlerde bildirilen diğer sonuçlardan düşük bulunmuştur. Çalışmamızda incelenen 370 balgam örneğinin 13 'ü, AMS örneğinin 9'u PZR yöntemi ile yalancı pozitif olarak saptandı. Bu oran mikroskopi testinde balgam örnekleri için 5, AMS örneklerinde 1 olarak belirlendi. Balgam örneklerinde PZR testi pozitif, kültür negatif olan 4 olgunun, klinik tanıları geriye dönük olarak gözden geçirildiğinde, bu olguların klinik, radyolojik ve tedavi öykülerine dayanılarak tedavi alan akciğer TB'lu hastalar olduğu saptandı. Bu durum tedavi gören hastalarda ilaç etkileşimine bağlı olarak mikroorganizmanın öldüğü, ancak sistemin canlı yada ölü bakteri ayrımı yapmadan DNA'yı saptama özelliğinde olması nedeni ile pozitif olduğudur. Tüm hastalarımızın klinik verilerine ulaşamadığı için sadece kültür yöntemi referans kabul edildi. Bu nedenle test performansımızın düşük ol-

duğu düşüncesindeyiz. Sunulan çalışmada, mikroskopi ile % 2.14, PZR ile %3.97 oranında *M.tuberculosis* pozitifliği saptanmıştır. PZR yönteminin özgüllüğü yüksek olmasına rağmen duyarlılığı düşük bulunmuştur. Akciğer dışı TB'nin mikrobiyolojik tanısı akciğer TB'den daha zordur. Bunun en önemli nedeni klinik örnekte basil miktarının az olmasıdır. Bunun dışında steril vücut sıvılarında ve dokularda moleküler testlerin performansını etkileyen inhibitör maddeler bulunmaktadır. Bu nedenler, yaymanın negatif bulunmasına, kültürde etkenin üretilmemesine ve moleküler testlerin duyarlılığının düşmesine yol açar. Yapılan çalışmalarda, bu oranlar sırasıyla %74.3-89.5 ve %100 olarak bildirilmektedir (18-279). Çalışmamızda duyarlılığın düşük bulunmasının bir nedeni , kültür pozitif olgularının %5 gibi az oranda olması olabilir. Bu nedenle araştırmanın seçilmiş, klinik kuşkunun yüksek olduğu olgularda yapılması güvenilir verilerin elde edilmesini sağlayacaktır. Sonuç olarak akciğer kaynaklı örneklerde tüberkülozun hızlı mikroskopi ve PZR arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. PZR testinin duyarlılığı akciğer kaynaklı örneklerde akciğer örneklerinde PZR testinin duyarlılığı %55, özgüllüğü % 97 , akciğer dışı örneklerde ise duyarlılığı %39, özgüllüğü % 97 olarak değerlendirilmiştir.

Tüberkülozun erken tanısında mikroskopi yöntemi hızlı, kolay ve en ucuzu test yöntemi olmaya devam etmektedir. PZR testlerinin maliyetlerinin yüksek olması ve duyarlılıklarının düşük olması nedeni ile CDC'ininde önerileri doğrultusunda yayma pozitif örneklerde MTBC'nin tanımlanmasında ve seçilmiş olgularda kullanımının doğru olacağı düşüncesindeyiz.

Kaynaklar

1. Keleşoğlu N. Tüberküloz Tanısında Bakteriyolojik Yöntemler. In Kocabaş A, et al.(Eds.), Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü. Çukurova Üniversitesi Basımevi, Adana. 1991;211-219.
2. Koneman EW, Alen SD, Jonda WM, Schreeckenberger PC, Winn VC. Mycobacteria. In: Diagnostic Microbiology, 4th Ed. Lippincott Company, Philadelphia. 1992; 703-755.
3. Martin G, Lazarus A. Epidemiology and diagnosis of tuberculosis: recognition of at-risk patients is key to prompt detection. Postgrad. Med. 2000; 108: 42-54.
4. Noordhoek GT, Kolk HA, Bjune G, Catty D, Dale JW, Fine PE, Godfrey-Faussett P, Cho SN, Shinnick T, Svenson SB. Sensitivity and specificity of PCR for detection of *Mycobacterium tuberculosis*: a blind comparison study among seven laboratories. J. Clin. Microbiol. 1994; 32: 277-284.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Nucleic acid amplification tests for tuberculosis. Morb. Mortal. Wkly. Rep. 2000; 49(26): 593.
6. Miller NT, Cleary G, Kraus A, Young G . Rapid and specific de-

- tection of Mycobacterium tuberculosis from acid-fast bacillus smear-positive respiratory specimens and BacT Alert MP culture bottles by using fluorogenic probes and real-time PCR. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40: 4143-4147.
7. D'Amato RF, Wallman AA, Hochstei LH, Colaninno PM, Scardamaglia M E, Ardila M and et all. Rapid diagnosis of pulmonary tuberculosis by using Roche AMPLICOR Mycobacterium tuberculosis PCR test. *J. Clin. Microbiol.* 1995; 33: 1832-1834.
8. Johansen IS, Thomsen VO, Johansen A, Andersen P, Lundgren B. Evaluation of a new commercial assay for diagnosis of pulmonary and nonpulmonary tuberculosis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2002; 21: 455-460.
9. Reischl U, Lehn N, Wolf H, Naumann L. Clinical evaluation of the automated COBAS AMPLICOR MTB assay for testing respiratory and nonrespiratory specimens. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36: 2853-2860.
10. Scarparo C, Piccoli P, Rigon A, Ruggiero G, Scagnelli M, Piersimoni C. Comparison of enhanced Mycobacterium tuberculosis amplified direct test with COBAS AMPLICOR Mycobacterium tuberculosis assay for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex in respiratory and extrapulmonary specimens. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38: 1559-1562.
11. Goessens WH, Man P, Koeleman JG, Luijendijk A, Witt R, Endtz HP, Belkum A. Comparison of the COBAS AMPLICOR MTB and BDProbeTec ET assays for detection of Mycobacterium tuberculosis in respiratory specimens. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43: 2563-2566.
12. Levidiotou S, Vrioni G, Galanakis E, Gesouli E, Pappa C, Stefanou D. Four-year experience of use of the Cobas Amplicor system for rapid detection of Mycobacterium tuberculosis complex in respiratory and nonrespiratory specimens in Greece. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2003; 22: 349-356.
13. Piersimoni, C, Scarparo C, Piccoli P, Rigon A, Ruggiero G, Nista D, Bornigia S. Performance assessment of two commercial amplification assays for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex from respiratory and extrapulmonary specimens. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40: 4138-4142.
14. Bergmann JS, Keating WE, Woods GL. Clinical evaluation of the BDProbeTec ET System for rapid detection of Mycobacterium tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38: 863-865.
15. Carpentier E, Drouillard B, Dailloux M, Moinard D, Vallee E, Dutilh B, Maugein J, Bergogne-Berezin E, Carbonelle B. Diagnosis of tuberculosis by Amplicor Mycobacterium tuberculosis test: a multicenter study. *J. Clin. Microbiol.* 1995; 33: 3106-3110.
16. Catanzaro A, Perry S, Clarridge JE, Dumbar S, Goodnight-White S, LoBue P A, Peters C, Pfyffer GE., Sierra MF, Weber R, Woods G, Matthews G, Jonas V, Smith K, Della-Latta P. The role of clinical suspicion in evaluating a new diagnostic test for active tuberculosis: result of a multicenter prospective trial. *JAMA.* 2000; 283:639-645.
17. DesJardin LE, Chen Y, Perkins MD, Teixeira L, Cave MD, Eisenach KD. Comparison of the ABI 7700 system (TaqMan) and competitive PCR for quantification of IS6110 DNA in sputum during treatment of tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36: 1964-1968.
18. Fenner T, Schirm J, Aubert D, Gaudreau C, Sala E, Ruiz-Serrano MJ, Petersen H, Oostendorp LA, Burkardt H. Multicenter study of a commercial, automated polymerase chain reaction system for the rapid detection of Mycobacterium tuberculosis in respiratory specimens in routine clinical practice. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2001; 20: 724-731.
19. Lemaître N, Armand S, Vachée A, Capilliez O, Dumoulin C, Courcol RJ. Comparison of the Real-Time PCR Method and the Gen-Probe Amplified Mycobacterium tuberculosis Direct Test for Detection of Mycobacterium tuberculosis in Pulmonary and Nonpulmonary Specimens. *J Clin Microbiol.* 2004; 42(9): 4307-4309.
20. Scarparo C, Piccoli P, Rigon A, G. Ruggiero M. Comparison of enhanced Mycobacterium tuberculosis amplified direct test with COBAS AMPLICOR Mycobacterium tuberculosis assay for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex in respiratory and extrapulmonary specimens. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38: 1559-1562.
21. Woods GL, Bergmann JS, Williams-Bouyer N. Clinical evaluation of the Gen-Probe amplified Mycobacterium tuberculosis direct test for rapid detection of Mycobacterium tuberculosis in select nonrespiratory specimens. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39: 747-749.
22. Timothy JC, Roudel G, Casillas O, Miller N. Rapid and Specific Detection of Mycobacterium tuberculosis by Using the Smart Cycler Instrument and a Specific Fluorogenic Probe. *J Clin Microbiol.* 2003; 41(10): 4783-4786.
23. Kraus G, Cleary T, Miller N, Seivright R, Young AK, Spruill G, Hnatyszyn HJ. Rapid and specific detection of Mycobacterium tuberculosis using fluorogenic probes and real-time PCR. *Mol. Cell. Probes.* 2001; 15: 375-383.
24. Tanaka H, Hirose H, Kato Y, Kida S, Miyajima E. Clinical Evaluation of TRCRapid M.TB for Detection of Mycobacterium tuberculosis Complex in Respiratory and Nonrespiratory Specimens. *J Clin Microbiol.* 2010; 48(5): 1536-1541.
25. Drouillon V, Delogu G, Dettori G, Lagrange PH, Benecchi M, Houriez F, Baroli K, Ardito F, Torelli R, Chezzi C, Fadda G, Herrmann JL. Multicenter evaluation of a transcription reverse- transcription concerted assay for the rapid detection of mycobacterium tb complex in clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.* 2009;1730-08.

Sorumlu Yazar: Doç. Dr. Gülnur TARHAN
Ahi Evran Üniversitesi, Kırşehir- TÜRKİYE
Tel: 0 (386) 211 4812
E-mail: gulnur.tarhan@yahoo.com

Oktenidin Dihidrokloridin Ekinokok Protoskolekslerinin Viabilitesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi

The Effect of Octenidine Dihydrochloride on Viability of Echinococcus Protoscolex

Filiz DEMİREL¹, Bora ÖZEL², Funda DOĞRUMAN-AL¹, Nedim SULTAN¹

¹ Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara - TÜRKİYE

² Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 22.07.2011

Kabul Tarihi: 13.09.2011

Özet

Amaç: *Echinococcus granulosus* insanlarda en sık olarak karaciğere yerleşerek kist hidatik hastalığına neden olan bir sestodtur. Karaciğer kist hidatiğinde temel tedavi yaklaşımını cerrahi operasyon oluşturmaktadır. Cerrahi tedavide kist içeriğinin detoksifiye edilmesi amacıyla antiseptik olarak çeşitli maddeler kullanılmaktadır. İdeal bir skolosidal madde düşük konsantrasyonda ve kısa sürede etkili, kist sıvısı içinde dilüe olmaktan etkilenmeyen ve stabilitesini koruyan, skoleksleri öldürme kapasitesi yüksek, toksik olmayan, viskozitesi düşük, ucuz ve kolay hazırlanabilir olmalıdır. Kistin açılması veya uzaklaştırılması öncesinde skolosidal ajanların kullanılması önerilmektedir. Bu uygulama ile cerrahi sırasında protoskolekslerin operasyon bölgesine ve vücudun diğer alanlarına yayılımının engellenmesi amaçlanmaktadır. Son yıllarda protoskolekslere daha etkili olabilecek antiseptik madde arayışları devam etmektedir. Bu çalışma mukozal bir antiseptik olarak kullanılan Octenidine dihydrochloride (oktenidin dihidroklorid)'in ekinokok protoskoleks viabilitesi üzerine etkisinin araştırılması amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda hastanemiz Genel Cerrahi Kliniği'nde karaciğer kist hidatiği tanısı alan bir hastadan ameliyat sırasında alınan kist sıvısı kullanıldı. Kist sıvısı in-vitro olarak %0.1 ve %0.01 lik oktenidin dihidroklorid (Octenisept®, Schülke & Mayr, Norderstedt, Germany) ile 1-5-10 dakika bekletilerek protoskolekslerin viabilitesindeki değişim, protoskoleks yapısındaki dejenerasyon, protoskoleks kontraksiyonlarındaki değişim, alev hücre hareket kaybı ve canlılığını yitiren protoskolekslerin içlerine boya (metilen mavisi) alma özellikleri incelenerek değerlendirildi.

Bulgular: Oktenidin dihidroklorid'in önerilen %0.1'lik kullanım konsantrasyonu protoskolekslerin tümünü ilk dakikada etkilemiş ve 5 dakika içinde kist sıvısındaki protoskolekslerin % 100'ünü öldürdüğü saptanmıştır. %0.01'lik antiseptik konsantrasyonu ile yapılan uygulamalarda ise 10. dakika sonunda protoskolekslerin %99'u viabilitesini yitirmiştir.

Sonuç: Yeni bir mukozal antiseptik olan oktenidin dihidrokloridin protoskoleksler üzerinde güçlü bir öldürücü etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Karaciğer kist hidatiği olan hastaların postoperatif dönemde rekürrenslerinin en az düzeye indirilmesi için cerrahi operasyon sırasında skolosidal ajanların kullanımı ve etkin ajanın seçilmesi önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Oktenidin dihidroklorid, *Echinococcus*, Protoskoleks, Antiseptik.

Abstract

Aim: *Echinococcus granulosus* is a tapeworm mostly placed in the liver of human body and it causes the disease of hydatid cyst. Surgical intervention is still the preferred treatment method for the liver hydatid cyst. During the surgical treatment, various antiseptic substances are used for the detoxification of cyst contents. An ideal scolical agent is defined as being potent in low concentrations, acting in a short period of time, being stable in cyst fluid, not affected by dilution with the cyst fluid, being able to kill the scolex in the cyst, being nontoxic, having low viscosity, and being readily available and easily prepared as well as inexpensive. Inactivation of the scolex with a scolical agent prior to opening or removing a cyst is strongly recommended. The aim of this application during the surgery to prevent of protoscolex spread to the operation areas or to the other sides of the body. In recent years, the researches have been continue for more effective antiseptic agents to the protoscolexes. This study was carried out to investigate the effect of octenidine dihydrochloride, that is one of mucosal antiseptic, on the protoscolex of *E. granulosus* viability.

Material and Method: In our study, we used the cyst fluid, retrieved during the operation from a liver hydatid patient who has been observed at the General Surgery Clinic of our hospital. The cyst fluid content was placed for 1-5-10 minutes like an in-vitro with 0.1% and 0.01% of octenidine dihydrochloride (Octenisept®, Schülke & Mayr, Norderstedt, Germany) and it was assessed by examining the change in the viability of the protoscolexes, the degeneration in the structure of protoscolex, the change in the protoscolex contractions and the dye (methylene blue) import features of the protoscolex which has lost their viability and flame cell movement.

Results: It was detected that the 0.1% proposed usage concentration of the octenidine dihydrochloride has affected all of the protoscolex in the first minute and killed 100 % of the protoscolexes in 5 minutes. In the applications with the 0.01% concentration of octenidine dihydrochloride, the protoscolexes has lost 99% of their viability after 10 minutes.

Conclusion: It has been concluded that the octenidine dihydrochloride which is a new mucosal antiseptic has strong lethal effect against the *E. granulosus* protoscolexes. During surgery the selection of active agent and the usage of the scolical agents are very important for the liver cyst hydatid patients in order to minimize their recurrences during the postoperative period.

Keywords: Octenidine dihydrochloride, Echinococcus, Protoscolex, Antiseptic

Giriş

Kist hidatik, ekinokok türlerine ait larva şekillerinin insan ve hayvanlarda oluşturduğu bir hastalıktır. Ülkemizde yaygın olarak görülmesi ve ciddi ekonomik kayıplara yol açması nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur. Ülkemizdeki olgularda en sık olarak *Echinococcus granulosus* (*E. granulosus*) türü etken olarak saptanmaktadır. Kist hidatik hastalığının belirtileri, kistlerin geliştiği organlara göre değişmekle birlikte hastalığın en sık rastlandığı organ karaciğerdir. (1-3)

E. granulosus, erişkin şeritleri köpeklerin ince bağırsaklarında, larval kist dönemi otçulların iç organlarında bulunan bir sestodtur. Yaşam döngüsünde insan ara konaktır. Larvalar insanda germinatif bir membran ile çevrili hidatik kisti oluşturur. Hastalarda oluşan kist, antijenik potansiyeli yüksek berrak bir sıvı ile doludur ve bu sıvının içinde protoskoleks olarak adlandırılan çok sayıda küçük larva bulunmaktadır (1,2).

Kistler kapsüllü olmaları nedeniyle hastada uzun yıllar semptom vermeyebilirler. Kist hidatik tanısı, semptom ve klinik bulguların yanında radyolojik ve serolojik yöntemler kullanılarak konulmaktadır (3,4).

Büyük ekonomik kayıplarla beraber morbidite ve mortaliteye neden olan bu hastalığın tedavisi, insanlarda kistlerin cerrahi olarak çıkarılması veya ilaçla küçültülmesi ile mümkün olmakla beraber tedavi çok güç ve risklidir. Ayrıca cerrahi girişim sonrasında protoskolekslerin tamamen öldürülememesine bağlı olarak nüksler görülebilmektedir (1,5,6)

Cerrahi tedavide öncelikle kist sıvısı aspire edilmekte, sonra kalan sıvıdaki protoskoleksleri öldürmek ve sıvıyı detoksifiye etmek için formalin, hidrojen peroksit, gümüş nitrat, etil alkol veya hipertonic NaCl gibi bazı sıvılar kist içerisine uygulanmakta ve sonrasında kist kesesi çıkarılmaktadır (2). Ancak bu işlemler sırasında kist sıvısı vücut boşluklarına sızacak olursa protoskoleksler başka bölgele-

re giderek yeni kistlerin gelişmesine yol açabilmekte aynı zamanda bazı olgularda anafilaktik şoka neden olabilmektedirler (1,2).

Protoskolekslerin yayılımını ve sekonder hidatik kistlerin oluşumunu engellemek için kist içerisindeki sıvının protoskolekslere öldürücü olabilen maddelerle detoksifiye edilmesi büyük önem taşımaktadır (3,5,6). Son yıllarda protoskoleksler üzerine daha etkili olabilen aynı zamanda hasta için daha az toksik olan yeni antiseptik madde arayışı devam etmektedir. Son yıllarda mukoz membranlar için antiseptik olarak kullanılan oktenidin dihidroklorid yeni mukozal antiseptiklerden bir tanesidir (3,7).

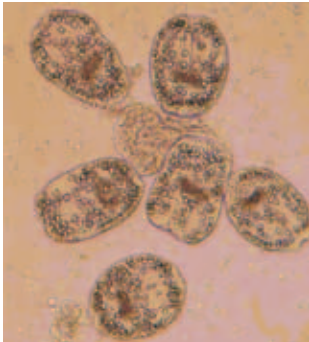
Bu çalışmada cerrahi girişim sırasında tedavi amacıyla kist sıvısına uygulanan oktenidin dihidrokloridin in-vitro olarak protoskoleks viabilitesi üzerine etkisinin bu etki şiddetinin hangi düzeyde olduğunun araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada Ocak 2011'de hastanemiz Genel Cerrahi Bölümüne başvuran 45 yaşında erkek hastanın yapılan tetkiklerinde karaciğer kist hidatiği olduğu saptanmış bu nedenle cerrahi girişimde bulunulmuştur. Operasyon sırasında kist içerisinden aspire edilen sıvı hemen mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırılmıştır.

Kist sıvısından yapılan direkt mikroskopik incelemede antiseptiğin germisidal etkisini incelemeye yetecek sayıda protoskoleks bulunduğu belirlenmiştir. Protoskoleks canlılığının zarar görmemesi için sıvı 500 g'de 10 dakika santirifüj edilmiş ve sedimentteki protoskoleks sayısının 4×10^4 /ml olacak şekilde sulandırımı yapılmıştır (Şekil 1).

Şekil 1: Kist sıvısından yapılan ilk mikroskopik incelemede görülen protoskoleksler



Hazırlanan protoskoleks süspansiyonundaki protoskolekslerin viabilitesi incelenmiş ve % 98'inin canlı olduğu gözlenmiştir. Viabilite testleri, materyal üzerine %0.3'lük metilen mavisi eklenip canlı protoskolekslerin boyayı almadığının görülmesi, protoskoleks yapısının intakt olması, protoskolekslerin kontraksiyon hareketi, aynı zamanda alev hücre aktivitelerinin incelenmesiyle yapılmıştır.

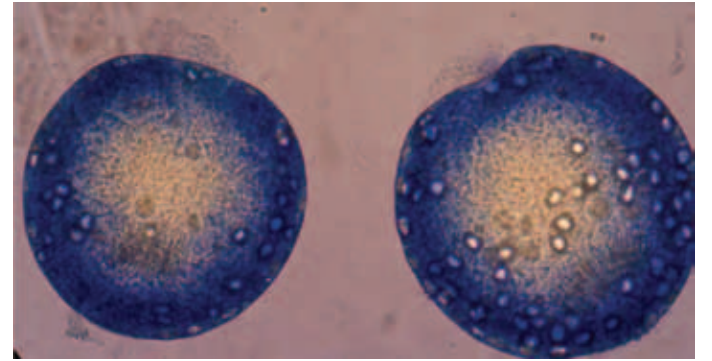
Çalışmada 100ml'sinde 0.1 gr oktenidin dihidroklorid içe-

ren Octenisept ® (Schülke & Mayr, Norderstedt, Germany) isimli mukoza antiseptiği kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan oktenidin dihidrokloridin hazır süspansiyonu %0.1'lik konsantrasyona sahiptir. Bu konsantrasyondan bu antiseptiğin %0.01'lik konsantrasyonu da hazırlanmıştır. Her iki konsantrasyondaki antiseptik çözeltilerinden 200 µl alınarak 200 µl protoskoleks süspansiyonu üzerine eklenerek karıştırılmıştır. Oda ısısında 1, 5 ve 10 dakika bekletilmiş ve her tüpten bekleme süreleri sonunda örnekler alınarak canlılık kontrolü yapılmıştır. Canlılık, protoskoleks-antiseptik karışımının bir damlasına 10 µl %0.3'lük metilen mavisi damlatılarak incelenmiştir. Kontrol amacıyla 200 µl protoskoleks süspansiyonu üzerine yine 200 µl serum fizyolojik konularak bekleme süreleri sonunda benzer incelemeler yapılmıştır.

Bulgular

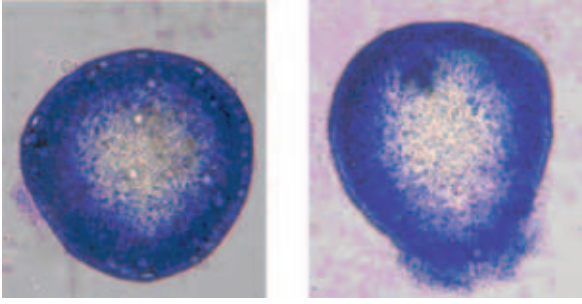
Oktenidin dihidrokloridin iki farklı konsantrasyonunun protoskoleksler üzerine etkisi ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir.

Oktenidin dihidrokloridin kullanım konsantrasyonu olan %0.1'lik sulandırımının uygulanması sonunda ilk 1. dakikada protoskolekslerin tümünün hücre duvarının metilen mavisi boyasını almaya başladığı gözlenmiştir (Şekil 2).



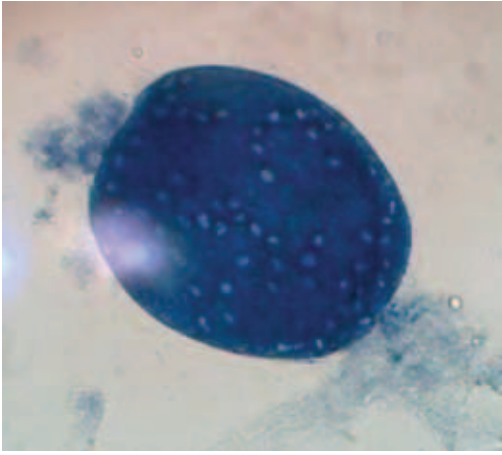
Şekil 2: Oktenidin dihidroklorür uygulamasından sonra 1. dakika protoskolekslerin görünümü

Beşinci dakikadan itibaren metilen mavisinin tüm protoskolekslerde, yapının merkezine kadar diffüze olduğu ve bu anlamda protoskolekslerin canlılığını yitirdiği belirlenmiştir. Viabilite yani canlılık kaybı, protoskolekslerdeki intakt yapının kaybolması, duvar yapısında dejenerasyonların oluşumu, alev hücre hareketliliğinin kaybolması ve protoskoleks kontraksiyon kaybının izlenmesiyle değerlendirilmiştir. Ancak bazı protoskolekslerde metilen mavisi boyasının alınması alev hücre hareketlerinin izlenmesini zorlaştırmıştır (Şekil 3a,b).



Şekil 3 (a,b): Oktenidin dihidroklorür uygulamasından sonra 5. dakika protoskolekslerin görünümü

Onuncu dakikada yapılan incelemede protoskolekslerin tümünün canlılığını kaybettiği izlenmiştir (Şekil 4).



Şekil 4: Oktenidin dihidroklorür uygulamasından sonra 10. dakika protoskolekslerin görünümü

Oktenidin dihidrokloridinin %0.01'lik sulandırımının uygulanması sonunda ilk 1. dakikada protoskolekslerin % 98'inin hücre duvarının metilen mavisi boyasını almaya başladığı gözlenmiştir. Beşinci dakikadan itibaren metilen mavisinin protoskolekslerin % 98'inin hücre içlerine kadar diffüze olduğu saptanmıştır. Onuncu dakika sonunda protoskolekslerin % 99'unun tamamen boyanarak öldüğü belirlenmiştir. Kontrol amacıyla serum fizyolojik eklenen protoskoleks süspansiyonlarından yapılan incelemelerde her üç bekleme süresi sonunda protoskoleks viabilite oranlarında herhangi bir değişiklik belirlenmemiştir.

Tartışma

Kist hidatik tedavisinde cerrahi girişim sırasında protoskolekslerin yayılımını ve rekürrensleri önlemek için kist içine antiseptik uygulanarak kist içeriğinin tamamen inaktive edilmesi büyük önem taşımaktadır (1,3,8). Kist sıvısındaki protoskoleksleri öldürmek ve sıvıyı detoksifiye etmek için formalin, hidrojen peroksit, gümüş nitrat, etil alkol veya hipertonic NaCl gibi maddeler sıklıkla kullanılmakla birlikte, daha etkili skolosidal ajanların bulunması için arayışlara devam edilmektedir (8,9).

Hipertonik NaCl çözeltisi kist hidatik cerrahisi sırasında en sık kullanılan skolosidal ajanlardan birisidir. Kayaalp ve ark. hipertonic NaCl'nin farklı konsantrasyonlarını kullandıkları çalışmalarında, düşük konsantrasyonda protoskoleksler üzerine öldürücü etkinin daha düşük olduğunu göstermişlerdir (10). Little ve ark. yaptığı çalışmada hipertonic NaCl'nin düşük konsantrasyonda uygulanmasının ardından %22 oranında rekürrens görüldüğü belirtilmiştir (11).

Hipertonik NaCl'ün yüksek konsantrasyonlarının skolosidal etkisi daha fazla olmakla birlikte, bu solüsyonun yüksek konsantrasyonda uygulanması safra kanallarında darlığa ve akut hipernatremiye yol açma riskine sahiptir (10). Düşük konsantrasyonlarda etkinliği düşük olduğu ve rekürrenslere yol açabildiği, yüksek konsantrasyonda ise ciddi yan etkilere yol açtığı için hipertonic NaCl çözeltisi iyi bir skolosidal ajan olarak görünmemektedir (8,11).

Formaldehit ve NaCl'ün skoleksler üzerine etkisinin araştırıldığı diğer bir çalışmada %5'lik formaldehitin intestinal fistül gelişimine neden olduğu, %25'lik NaCl'ün ise rekürrensleri önlemediği gösterilmiştir (12). Formol başta olmak üzere skolosidal ajanların hidatik kist içine enjeksiyonundan sonra safra yollarında sklerozan kolanjite neden olabildikleri yapılan araştırmalarda saptanmıştır (13).

Puryan ve ark.nın (14) yaptığı çalışmada %0.04'lük klorheksidin glukonat solüsyonu hayvan deneyinde in-vivo olarak test edilmiş, Topçu ve ark.nın (15) yaptığı çalışmada ise kist hidatik hastalarında cerrahi sırasında klorheksidin glukonat uygulanarak bu solüsyonun skolosidal etkinliği incelenmiş her iki çalışmada da protoskoleksleri öldürmede etkili olduğu, Ancak bu maddenin uzun vadedeki etkilerinin bilinmediği belirtilmiştir.

Yetim ve ark. ise alkol ve albendazolün skolosidal etkinliğini tavşan modeli oluşturarak in vivo olarak araştırdıkları çalışmalarında, albendazol solüsyonunun skoleksleri öldürmede alkole göre daha etkili olduğunu belirlemişlerdir (16).

Son yıllarda skoleksleri tamamen öldürerek rekürrensleri engellemede kullanılabilecek hem daha etkili hem de hasta için daha az yan etkiye sahip yeni antiseptik maddeler üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Bunlardan biri oktenidin dihidroklorididir. Oktenidin dihidroklorid mukoz membranlar için kullanılan bir yara antiseptiğidir (8). Gram pozitif bakterilere olduğu kadar Gram negatif bakterilere ve Candida cinsi mantarlara karşı antimikrobiyal etkinlik göstermektedir. Cilt ve mukozalardan emilimi düşük olup yan etkileri azdır (8,17). Literatürde bu antiseptiğin protoskolo-sidal etkisi ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur.

Çiftçi ve ark.nın oktenidin dihidroklorid, povidon iyodin ve NaCl'ün farklı konsantrasyonlarının protoskoleks viabilitesi üzerine etkileri karşılaştırdıkları çalışmalarında,

oktenidin dihidrokloridin skolosidal etkisinin povidon iyodün ve %20'lik NaCl'den daha yüksek olduğu saptanmıştır (3).

Bu çalışmada sadece bir hastadan cerrahi operasyon sırasında alınan kist sıvısında çok sayıda protoskoleks saptanması nedeniyle bu hasta örneğinde çalışma gerçekleştirilmiştir. Laboratuvarımıza viabilite testi için gelen kist sıvı örneklerinde bu tip bir çalışmaya yetecek sayıda canlı protoskoleks saptanmadığından başka örneklerde çalışma yapılamamıştır. Gelecekte hem insan kaynaklı hem de mezobahalardaki kesim hayvanlarından izole edilecek protoskoleksleri de içerecek şekilde, oktenidin dihidrokloridin yanısıra yeni antiseptikler de kullanılarak daha kapsamlı bir çalışma yapılması planlanmıştır.

Çalışmamızda oktenidin dihidrokloridin protoskoleks viabilitesi üzerine etkisi in-vitro olarak incelenmiştir. Antiseptiğin %0,1'lik konsantrasyonunun birinci dakikada protoskolekslerin % 100'ünü etkilediği ve 5. dakika sonunda tüm protoskolekslerin metilen mavisi ile boyanarak canlılıklarını yitirdikleri belirlenmiştir. Antiseptiğin %0.01'lik konsantrasyonu ile yapılan değerlendirmede protoskolekslerin 10 dakika içinde %99'unun öldüğü belirlenmiştir. Antiseptik yerine serum fizyolojik kullanılan kontrol tüplerindeki protoskoleks canlılığında bekleme süreleri sonunda hiçbir değişiklik olmamıştır. Bu çalışmadan alınan sonuçlar ile diğer araştırmacı sonuçları uyumlu görülmektedir.

Sonuç

Oktenidin dihidrokloridin %0.1 lik konsantrasyonunun kist içeriğini inaktive etmek için etkili bir madde olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

1. Filippou D, Tselepis D, Filippou G. Advances in liver Echinococcosis: diagnosis and treatment. Clin. Gastroenterol. Hepatol. 2007;5:152-159.
2. Czermak BV, Akhan O, Hiemetzberger R, Zelger B, Vogel W, Jascshke W et al.,. Echinococcosis of the liver. Abdom. Imaging. 2008; 33: 133-143.
3. Ciftci İH, Esmel H, Sahin DA. Effect of octenidine dihydrochloride on viability of protoscolices in hepatic and pulmonary hydatid diseases. J. Natl. Med. Assoc. 2007; 99: 674-677.
4. Scherer K, Gupta N, Caine WP, Panda M. Differential diagnosis and management of a recurrent hepatic cyst: a case report and review of literature. J. Gen. Intern. Med. 2009;24: 1161-1165.
5. Brunetti E, Kern P, Vuitton DA. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. Acta Trop. 2010;114: 1-16.
6. Mcfall B, Yousaf M, Calvert H, Diamond T, Epanomeritakis M. Surgical treatment of hepatic hydatid cyst. Int. J. Clin. Pract. 2004;58: 479-

482.

7. Mueller PR, Dawson SL, Ferrucci JT Jr, Nardi GL. Hepatic echinococcal cyst: successful percutaneous drainage. Radiology, 1985;155: 627-628.
8. Hübner N, Siebert J, Kramer A. Octenidine dihydrochloride, a modern antiseptic for skin, mucous membranes and wounds. Skin Pharmacol. Physiol. 2010;23: 244-258.
9. Sahin M, Eryilmaz R, Bulbuloglu E. The effect of scolicedal agents on liver and biliary tree (experimental study). J. Invest. Surg. 2004;17: 323-326.
10. Kayaalp C, Balkan M, Aydın C, Özgürtaş T, Tanyüksel M, Kirişlioğlu V, et al. Hypertonic saline in hydatid disease. World. J. Surg. 2001;25: 975-979.
11. Little JM, Hollands MJ, Ekberg H., Recurrence of hydatid disease. World. J. Surg. 1988;12:700-704.
12. Zhou ZD, Xu QH, Peng SZ. Intraoperative treatment of cyst contents in abdominal echinococcosis. Di Yi Jun Da Xue Xue Bao, 2004;24: 1335-1336.
13. Castellano G, Moreno-Sanchez D, Gutierrez J, Moreno-Gonzalez E, Colina F, Solis-Herruzo JA. Caustic sclerosing cholangitis. Report of four cases and a cumulative review of the literature. Hepatogastroenterology, 1994;41: 458-470.
14. Puryan K, Karadayi K, Topcu O, Canbay E, Sumer Z, Turan M, et al. Chlorhexidine gluconate: An ideal scolicedal agent in the treatment of intraperitoneal hydatidosis. World. J. Surg. 2005;29: 227-230.
15. Topcu O, Sumer Z, Tuncer E, Aydın C, Koyuncu A. Efficacy of chlorhexidine gluconate during surgery for hydatid cyst. World. J. Surg. 2009;33: 1274-1280.

16. Yetim I, Erzurumlu K, Hokelek M, Baris S, Dervisoglu A, Polat C et al. Results of alcohol and albendazole injections in hepatic hydatidosis: experimental study. J. Gastroenterol. Hepatol. 2005;20: 1442-1447.
17. Rigopoulos D, Rallis E, Gregoriou S, Larios G, Belyayeva Y, Gkouvi K et al. Treatment of Pseudomonas nail infections with 0.1% octenidine dihydrochloride solution. Dermatology 2009;218: 67-68.

Sorumlu Yazar: Doç.Dr.Funda DOĞRUMAN-AL
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
06500, Beşevler, Ankara
E-mail: alfunda@yahoo.com

Yemek Fabrikası Tarafından Üretilen Yemeğe Bağlı Gelişen Toplu Besin Zehirlenmesi

Mass Food Poisoning Outbreak Caused by the Produced Meal from the Same Food Company

Selçuk YAKIŞTIRAN, Ahmet AĞAÇAYAK, Özcan ÖZKAN

Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 11.08.2011

Kabul Tarihi: 13.09.2011

Özet

Amaç: Bu çalışma; bir yemek fabrikası tarafından üretilen yemeğe bağlı, bir organize sanayii bölgesinde faaliyet gösteren firmada çalışan işçilerde meydana gelen toplu besin zehirlenmesi salgınının incelenmesi amacıyla yapılmıştır. Bu olgu çerçevesinde besin zehirlenmelerine yaklaşım, adli olgu çerçevesinde de araştırılmış, değerlendirilmiş ve tartışılarak farklı bir bakış açısının kazanılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: 03 Eylül 2005 tarihinde bir organize sanayisi bölgesinde faaliyet gösteren bir firmada çalışan işçiler ishal, bulantı, kusma, ateş, karın ağrısı, baş ağrısı, eklem ağrısı ve halsizlik şikayetiyle hastane acil servisine başvurmuşlardır. Birçok kişinin barsak enfeksiyonu olması nedeni ile salgın inceleme basamaklarına uygun olarak salgın varlığının saptanması, tanının doğrulanması, salgından etkilenenlerin kişi-yer-zaman özelliklerinin saptanması, olası kaynağın bulunması, risk altındakilerin belirlenmesi, yeni vaka aranması, koruma ve kontrol önlemlerinin alınması ve raporlama işlemleri yapıldı. Alınan gıda, su ve gaita örneklerinin bakteriyolojik ve kimyasal analizleri yapıldı.

Bulgular: Yemek için kullanılan su ve yemeklerde herhangi bir bakteriyolojik üreme olmadığı, yemek yapımında kullanılan maddelerin örneklerinde ise *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* ürettiği saptanmıştır.

Hastaneye başvuran hastaların ise; 16'sında *S. enteritidis* ürettiği saptanmıştır. Bu hastalardan biri olaydan iki gün sonra, 05 Eylül 2005 tarihinde yaşamını yitirmiştir. Ölümün besin zehirlenmesi ve gelişen komplikasyonlardan olduğu iddiası ile delillerle dayanarak mahkemece hüküm verilmiştir.

Sonuç: Dünyada ve ülkemizde besin sektörü giderek gelişmekte olmasına rağmen hala gıda kaynaklı salgınlar görülmektedir. Dünya çapında ele alındığında ishalle seyreden hastalıklar ölüm nedenleri arasında kardiovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada gelmektedir. Bu sebeple özellikle besinle ilgili her türlü sektör ve yerlerde, başta kişilerin olmak üzere kullanılan malzeme, ortam, yiyecek ve suların temizliliğine ve hijyen olmalarına, hijyen kurallarına dikkat edilmeli, denetimlerin uygun kişilerce ve uygun olarak yapılması gerekmektedir. Bu durum gıda kaynaklı salgınların oluşmasını engelleyecektir. Ayrıca; Gıda kaynaklı salgınlar adli davalara konu olabilmekte, bu yüzden salgın yapan mikrobik etken veya toksinin belirlenebilmesi için hem mutlaka hastalardan ve gıdalardan örnekler alınmalı hem de moleküler yöntemler dahil mevcut bütün mikrobiyolojik tanı yöntemleri seferber edilmelidir. Özellikle *S. enteritidis* gibi sık rastlanan bakterilere bağlı salgınlar olmak üzere salgın kaynağı bakteri ile hastalardan izole edilen bakterinin aynı bakteri olup olmadığı moleküller yöntemlerle daha doğru şekilde ortaya konabilmektedir. Doğal olarak salgın kaynağı ortaya konduktan sonra önleyici tedbirler almak daha kolay olmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Salgın İncelemesi, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, Besin Zehirlenmesi

Abstract

Aim: The study is due to eating a meal produced by the factory, in an organized industry company operating in the mass food poisoning outbreak that occurred in workers was carried out to study. Cases of food poisoning within the framework of this approach in the context of criminal cases investigated, evaluated, and the discussion was to gain a different perspective.

Material and Method: On September 3, 2005 for a company operating in an organized industry workers diarrhea, nausea, vomiting, fever, abdominal pain, headache, joint pain, and resorted to the emergency department of the hospital with complaints of fatigue. Outbreak investigation steps in accordance with the presence of epidemic were confirmed via person-locality-time feature, determination of person that were under risk, localization of new cases, protection and control measures to be taken and reported procedures were performed. Received food, water and stool samples were bacteriological and chemical analysis. Food company has given food, substances used in cooking, chemical and bacteriological water samples were used.

Results: The water used for eating and cooking without any bacteriological growth, samples of materials used in cooking in the *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* was found to breed. In patients admitted to hospital, 16 of *S. enteritidis* was found to breed. 1 to 2 days after the incident of these patients, 05 died in September 2005. The claim that death is complications of food poisoning and developed on the basis of the evidence, the court has ruled.

Conclusion: Although the food sector is still developing in our country in the world and increasingly food-borne outbreaks. The food industry in our country and the developing world is increasingly ongoing although still food born outbreaks can be seen. Taken diarrheal diseases among causes of death worldwide is second only to cardiovascular diseases. For this reason, all kinds of foods in particular sectors and areas, particularly the material used to make people, environment, food and water they are kept clean and hygiene, hygiene rules should be noted, the inspections must be made in accordance with the appropriate persons and. This prevents food-borne outbreaks. Also, the subject of food-borne outbreaks of judicial proceedings olabilmekte, so that epidemic infectious agent or toxin must be both patient and food samples should be taken in order to determine both molecular methods should be included in the mobilization of all available methods of microbiological diagnosis. Especially common bacteria such as *Salmonella enteritidis* outbreaks due to bacteria isolated from patients with bacterial source of the epidemic, including whether the same bacterial molecules, we can introduce more accurate methods. After putting the epidemic as a natural resource that is easier to take preventive measures

Keywords: Epidemic investigation, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, food poisoning.

Giriş

Günümüzde 250'den fazla gıda kaynaklı hastalık tanımlanmaktadır. Bu hastalıkların çoğu; kontamine olmuş gıdaların tüketilmesi ile tek bir kişi veya bir grup insanın gıda zehirlenmesine maruz kalması ile olmaktadır(1). Bunun sebebi; gıdaların hazırlanması ve sunumu aşamasında hijyen kurallarına uyulmaması ve/veya hazırlanmasından sonra uygun saklama koşullarının sağlanamaması sonucu, gıdaların mikroorganizmalar (bakteri, virüs, parazit) veya bunların toksinleri ile kontamine olması ile meydana gelmektedir. Ayrıca; gıda zehirlenmeleri mikroorganizma ve

toksinleri dışında, besinlerdeki diğer kimyasal maddelere bağlı olarak da gelişebilmektedir. Günümüzde gıda kaynaklı enfeksiyonlardan en çok sorumlu tutulan mikroorganizmalar; *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Clostridium botulinum*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus cereus*, *Campylobacter* ve *Yersinia* spp., *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens* ve fungal toksinleridir(2).

Gelişen bulguların şiddeti; hafif bir karın ağrısı, bulantı, kusma, ishalden gıda kaynaklı zehirlenmeye kadar değişen geniş bir spektrum şeklinde görülmektedir. Dünyada ölüm nedenleri arasında ishal ile seyreden hastalıklar, kar-

diovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada gelmektedir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından, 2000 yılında 2.1 milyon kişinin sadece bu nedenle öldüğü bildirilmiştir(2,3).

Ortak bir gıdanın tüketilmesiyle iki veya daha fazla kişide aynı zaman ve yerde benzer belirtiler gösteren hastalık tablosu ortaya çıkmış ve epidemiyolojik analizler sonucu hastalığın kaynağı olarak da gıda ve içeceği işaret ediyorsa, olay gıda kaynaklı bir salgın olarak tanımlanmaktadır(2,4).

Salgınların soruşturulmasının/incelenmesinin iki amacı vardır. Birincisi; salgının yayılma riski nedeniyle kontrol altına alınması, ikincisi; salgına neden olan durumu ortaya çıkararak gelecekte benzer bir olayın meydana gelmesini önleyecek tedbirleri almaktır. Tam bir soruşturma için epidemiyolog, mikrobiyolog, infeksiyon hastalıkları uzmanı, gıda hijyeni/teknoloji uzmanı ve veteriner hekimden oluşan bir ekibe ihtiyaç duyulmaktadır(1,5).

Gıda zehirlenmesi düşünüldüğünde hasta ve kontrol gruplarından; serum, dışkı, kusmuk ve idrar, eğer hasta yaşamıyor ise; kan, karaciğer ve dalak dokusu, gıda sektöründe çalışan kişilerden; dışkı, boğaz sürüntüleri ile el gibi görünen bir yerde iltihabi yara, yanık, kesi varsa bu bölgelerden, şüpheli gıdalardan, yemeğin hazırlanmasında kullanılan malzeme ve ekipmanlardan örnekler alınmalıdır(2,1).

Bu örneklerin hem geleneksel altın standart olan kültür yöntemi ile hem de salgınların hızlı bir şekilde kontrol altına alınması için, hızlı teşhis metodları olan moleküler yöntemlerinin (Pulsed Field Gel Electrophoresis-PFGE gibi..) kullanılması gerekmektedir(6,7).

Gelişmiş ülkelerde, gıda kaynaklı enfeksiyonlar yıllık olarak %30'ların üzerindedir. Gelişmekte olan ve az gelişmiş ülkelerde güvenilir veriler olmadığından gerçek sayı bilinmemekte fakat durumun daha ciddi olduğu düşünülmektedir(2,3).

Amerika Birleşik Devletleri, gıda güvenliği konusunda dünyadaki en ileri ülkelerden biri olmasına rağmen; bu ülkede her yıl yaklaşık 76 milyon kişinin gıdalardan kaynaklanan hastalıklara maruz kaldığı, 325.000 kişinin hastanelerde yatarak tedavi görmek zorunda kaldığı ve 5.000 kişinin de hayatını kaybettiği ve gıda kaynaklı salgınların tıbbi maliyetinin ise yıllık 4 milyar dolar olduğu bildirilmektedir(2).

Türkiye'de, Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü 2003 yılı verilerine göre; 772151 ishal vakası ve 51 ishale bağlı ölüm bildirilmiştir. İshal etkenlerinin tanısında laboratuvarların yeterince ve doğru kullanılmaması sebebiyle, bu hastalıkların çoğu bildirilemediğinden ya da bildirimlerin standart tanımlara göre yapılmadığından dolayı, problemin gerçek boyutları tam olarak bilinmemektedir. Türkiye'de; gıda kaynaklı salgınlar ve ishaller hakkındaki ihbar mekanizmasının düzenli çalışma-

dığı ve resmi istatistiklerinin de düzenli tutulmadığı (tifo, paratifo, hepatit A, amipli/basilli dizanteri hariç) dikkati çekmektedir. Kişisel çabalarla yürütülen çalışmalar bir fikir verse de, ülke çapında ve özellikle salgınlara ait yeterli veriye ulaşmak mümkün olmamaktadır(1,6).

Türkiye'de 1981-2005 yılları arasında yapılan bazı çalışmalar incelendiğinde, Salmonella bakterilerinin dışkıdan izolasyon oranının genel olarak % 2-11 arasında olduğu ve gastroenterit etkeni Salmonella serotipleri içinde öne çıkanların yıllar içinde değiştiği görülmektedir. Ülkemizde 1980'li yıllarda izole edilen Salmonella suşlarının % 70-90'ı S.typhimurium iken, 1990'lı yılların başında S.enteritidis önceki yıllara göre daha sık görülme-ye başlamış ve birçok bölgede 1990'lı yılların ikinci yarısından itibaren S.typhimurium'a göre daha sık izole edilmiştir. Salmonella bakterilerinin serotip (serovar) sayısı bugün 2500'e yaklaşmıştır. Rutin mikrobiyoloji laboratuvarları kendi olanaklarına göre sadece o ülkede en sık görülen serotiplerin faktör serumlarını kullanarak serotiplendirme yapmaktadırlar. Ancak bir Salmonella serotipinin antijen yapısını belirlemenin o kadar basit bir işlem olmadığı, deneyim gerektirdiği, yoğun iş yükü altında ve kısıtlı olanakları olan rutin laboratuvarlarında büyük olasılıkla yanlışlıklar yapılabildiği ve bu nedenlerle ülkemizin Ulusal bir Salmonella Merkezine gereksinimi olduğu bildirilmektedir(8).

Barsak patojeni Escherichia coli, virotipleri: ishale neden olan 5 tip E.coli virotipi vardır: EPEC (enteropatojenik E.coli), EHEC (enterohemorajik E.coli), ETEC (enterotoksijenik E.coli), EIEC (enteroinvaziv E.coli) ve EAEC (enteroaderan E.coli). E.coli'nin barsak patojeni olan suşları genellikle gelişmekte olan ülkelerin çoğunda endemik olarak bulunurlar. EHEC enfeksiyonları ise başta gelişmiş ülkeler olmak üzere dünyanın pek çok yerinde görülmektedir. Bu bakterilerin tanısı için dışkıdan bakterinin izolasyonu tek başına bir anlam ifade etmez. Tanıda dışkı florasında bulunan E.coli suşları içinden virulan tiplerini ayırt edebilecek spesifik testlere gerek duyulması nedeniyle çoğu mikrobiyoloji laboratuvarında rutin olarak identifiye edilememektedirler(8).

Stafilokokkal besin zehirlenmeleri Amerika Birleşik Devletlerindeki en sık görülen ikinci sıradaki gıda kaynaklı zehirlenme nedenidir. Yıllık olarak kontamine gıda kaynaklı salgınların %14-20'sini oluşturmaktadır. Besin zehirlenmesi en sık olarak S.aureus'un ısıya dayanıklı Tip A enterotoksini tarafından oluşturulur. Sorumlu gıda türü pasta, süt, krema, et, salam vb. proteinden zengin şeker veya tuz içeren besinlerdir(9).

Ülkemizde; gıda kaynaklı hastalıkların profilinin belirlenmesi, erken ve uygun tanı, tedavi ve önlemler için hızlı teşhis metodlarının kullanılması ve olguların tekrarının önlen-

mesi bakımından uygulanması gereken düzeltici işlemlerin neler olduğunun ortaya konulması gerekmektedir.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada; bir yemek fabrikası tarafından üretilen yemeğe bağlı, 03.09.2005 tarihinde bir organize sanayi bölgesinde faaliyet gösteren firmada çalışan işçilerde meydana gelen toplu besin zehirlenmesi salgınının incelenmesi yapılmış, besin zehirlenmelerine yaklaşım ve özellikle adli konular açısından bakış araştırılmış, değerlendirilmiş ve tartışılmıştır. Adli olarak geriye dönük gıda kaynaklı salgın incelemesi, 3. Asliye Ceza Mahkemesi ile 1. Adli Tıp İhtisas Kurulu kararları üzerinden yapılmıştır.

03.09.2005 tarihinde meydana gelen gıdaya bağlı toplu besin zehirlenmesi sonucu çalışan işçiler ishal, bulantı, kusma, ateş, karın ağrısı, baş ağrısı, eklem ağrısı ve halsizlik şikâyetleriyle hastane acil servise başvurmuşlardır. Birçok kişinin barsak enfeksiyonu olması sebebi ile salgın inceleme basamaklarına uygun olarak salgın varlığının saptanması, tanının doğrulanması, salgından etkilenenlerin kişi-yer-zaman özelliklerinin saptanması, olası kaynağın bulunması, risk altındakilerin belirlenmesi, yeni vaka aranması, koruma ve kontrol önlemlerinin alınması ve raporlama işlemleri yapılmıştır. Ayrıca; gıda, su ve gaita örneklerinin bakteriyolojik ve kimyasal analizleri yapılmıştır.

Salgından etkilenenler için vaka tanımı, “bir yemek fabrikası tarafından üretilen yemeğe bağlı, 03.09/2005 tarihinde organize sanayi bölgesinde faaliyet gösteren firmada çalışan veya bu kişilerle ilişkili olan, 03.09.2005 akşamı başlayan kusma veya günde üç defadan fazla olan ishal ile birlikte, ateş, karın ağrısı, baş ağrısı, kas-eklem ağrısı, bulantı, kusma şikâyetlerinden en az birine sahip kişi/kişiler” olarak yapılmıştır.

Ankara İl Sağlık Müdürlüğü resmi kayıtlarına göre de; yemek firmasından temin edilen yemeklerden çalışanların 03/04/05.09.2005 tarihlerinde ishal, mide bulantısı, istifra gibi şikâyetlerle çeşitli hastanelere müracaat etmiş oldukları belirlenmiş, bir kısmının müşahade altına alınmış olduğu ve hastaneye sevk edilen 16 kişinin mikrobiyolojik tetkiklerinde *S. enteritidis* ürediği saptanmıştır.

Hastaneye başvuranların büyük çoğunluğunun bir müddet gözlem altında tutulduktan sonra tedavileri düzenlenerek taburcu edilmesi nedeniyle, hastaneye başvuran tüm hastalar dava dosyasında görüşülememiş, bu sebeple 3. Asliye Ceza Mahkemesi karar kayıtlarında sadece 3 vaka ayrıntılı değerlendirilmiştir.

Laboratuvar Analizleri

Gıda zehirlenmesi ön tanısıyla hastanelere başvuranlardan alınan gaita örnekleri, ilgili hastanelerin laboratuvarların-

da mikrobiyolojik yönden incelenmiştir.

Ayrıca; ilgili yemek fabrikasının 03.09.2005 tarihinde ürettiği yemeklerden şahit numune olarak saklanan örnekler, Ankara İl Halk Sağlığı Laboratuvarı'nda incelenmiş ve 06.09.2005 tarihli bu inceleme analiz raporunda; yemek imalat suyunun analizinde; koliform bakteri, *E. coli*, *V.cholerae*, fecal streptokok bulunmadığı, uygun olduğu, tüketime hazır çiğ sebzelerin incelenmesinde; Türk Gıda Kodeksi mikrobiyolojik kriterler tebliği ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında; tereyağında 240 ems/gr koliform, 95 ems/gr *E. coli* bulunduğu, peynirde 240 >ems/gr koliform, 240 >ems/gr *E. coli*, 400 *S. aureus*, *S. enteritidis* ürediği ve pasta hamur tatlılarında (kadayıf) *E. coli* ürediği saptanmış, bunların uygun olmadığı saptanmıştır. Ayrıca; maydanoz ve beyaz peynirin de uygun olmadığı mikrobiyolojik olarak belirlenmiştir.

ASO-KOSGEB çevre laboratuvarınca, ASKİ arıtma çıkışından 12.08.2005 tarihli alınan su numunesine ait analiz raporunda da; koliform ve fekal koliform bulunmadığı, TS 266'ya uygun olduğu belirtilmiştir.

Ölen kişide otopsi yapılarak iç organ değişimleri araştırılmamış, kimyasal inceleme yapılmamıştır.

Bulgular

Olgu 1) 25 yaşında; erkek hasta; Ankara Numune Hastanesi'ne 04.09.2005 tarihinde, akut spesifik enterit tanısı ile yatırılmıştır. Yatışından 1 gün önce başlayan şiddetli bulantı, kusma ve ishal yakınmalarının olduğu belirlenmiştir. Genel durumu iyi, şuuru açık, vital bulguları stabil, dili kuru, barsak sesleri hiperaktif, sistemik muayenesi doğal olan hastanın laboratuvar bulguları olarak; BK: 35500, plt:397000, Hct:65, Üre: 79-57; ere: 1.64-1.12; Na:133-134, K:3.3-4.1 olduğu tespit edilmiş. Ayrıca; gaitada eritrosit, lökosit, parazit olmadığı tespit edilmiş olan hastanın kültür sonucu erken belirlenemediği için antibiyotik ve sıvı takviyesi yapılarak tedavisi yapılmış, 06.09.2005 tarihinde hasta şifa ile taburcu edilmiştir.

Olgu 2) Erişkin, genç erkek hasta; Ankara Ulus Devlet Hastanesi'ne 03.09.2005 tarihinde akut gastroenterit tanısı ile yatırılmış, şiddetli bulantı, kusma ve ishal şikâyetleri olan hastanın barsak sesleri hiperaktif, dili kuru, genel durumu iyi, şuuru açık ve vital bulguları normaldi. BK:15000 olan hastaya antibiyotik ve sıvı takviyesi yapılarak tedavi edilmiş, ayrıca akut gastroenterit tanısı ile hastaneden taburcu edilirken, 5 gün istirahat verilmiştir.

Olgu 3) 1958 doğumlu; erkek hasta; Ankara Dışkapı Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne 03.09.2005 tarihinde yatırılmıştır. Hikâyesinde 03.09.2005 tarihinde arkadaşını ziyaret etmek için işyerine gittiği, öğle yemeğini burada yediği ve ishal, bulantı, kusma, ses kısıklığı şikâyetiyle has-

taneye başvurduğu, ishalinin yemekten sonra başladığı, açık sarı- beyaz renkte, kansız, mukussuz olduğu, sayısız kere ishal ve 10 kereden fazla kusması olduğunu söylediği, ses kısıklığının akşam başladığı, hiç ilaç kullanmadığı ve çevresinde ishali olan olmadığı belirlenmiştir.

Fizik muayenesinde; batın hassasiyeti (+), barsak sesleri hiperaktif, olağan perkusyonda traube açık, asid yok, oskültasyon doğal, dalak doğal, kosto vertebral açı hassasiyeti yok, ekstremiteler ve sinir sistemi doğal, ses kısıklığı, bulantı-kusması (+), mukozalar kuru, TA: 70/40 mmHg, Nb: 98, ateş 36,6 derece olduğu tespit edilmiştir.

Akut gastroenterit tanısı konulan hasta; infeksiyon hastalıkları servisine yatırılmış ve tedavisi siprofloksasin 1x500 mg, 3000 cc. ringer laktat, 500 cc. %5 dextroz, 500 cc. neframin ve metoclopramide 3x1 ile başlamıştır. Hastanın taşikardi ve göğüs ağrısı nedeni ile 03.09.2005 tarihinde saat 24.00'da yapılan dahiliye konsültasyonunda; TA: 90/60 mmHg, Ateş: 36,8 °, kalp sesleri taşikardik, ritmik, solunum sesleri doğal, BVD yok, ödem yok, siyanoz yok, EKG'de supraventriküler taşikardisi olduğu, sıvı kaybına sekonder taşikardi düşünüldüğü mayi tedavisi ile TA: 100 mmHg'nın üstünde tutulmasının önerildiği, 04.09.2005 tarihi saat 04.00'te supraventriküler taşikardi devam ettiği için diltiazem ampul %5 medifleks içinde uygulanabileceğinin uygun olduğu belirtilmiştir.

04.09.2005 tarihli saat 08.30'da yapılan dahiliye konsültasyonunda ise; TA: 90/60 mmHg olduğu, hipovolemiye bağlı hipotansiyon düşünüldüğü ve hızlı bir şekilde izotonik infüzyonu, eğer yanıt alınmaz ise dopamin infüzyonu önerildiği belirtilmiştir. 04.09.2005 tarihinde 4000 cc. ringer laktat infüzyon olarak gönderilmiş, ateş: 36,3°, TA: 70/40 ile 100/80mmHg, Nb:88-120/dk. arası ölçüldüğü, ayrıca; saat 22.00'den sonra 800 cc. oral su aldığı, 1400 cc. nazogastrikten çıktısı olduğu kaydedilmiştir.

05.09.2005 tarihinde 4000 cc. ringer laktat, 500 cc. %5 dextroz, 500 cc. neframin, metoclopramide, safran amp, omeprazol, furosemide ve salbutamol tedavide kullanılmıştır. Gün içerisinde 3400 cc. oral sıvı, 10000 cc. ringer laktat aldığı, 50 cc. idrar, 500 cc. kusma, 8600 cc. nazogastrikten sıvı çıkışı olduğu ve ateş: 36,3 °, Nb: 70-50/dk. Arasında ve TA: 100/70mmHg olduğu belirlenmiştir. 05.09.2005 tarihli acil yoğun bakım kabul notunda; intaniyeye yattığında idrar çıkışı yok; TA: 70/40 mmHg, hipovolemik şok? ve ileri derecede dehidrate olduğu belirtilmiştir. Hastada hırıltılı solunum ve raller gelişince, tekrar dahiliye konsültasyonu yapıldığı, bir süre sonra arrest olduğu, resusite edilip mekanik ventilatöre bağlanmak üzere acil yoğun bakıma yatırıldığı, geldiğinde ileri derecede dehidrate olduğu, idrar çıkışı olmadığı, siyanoze olduğu, EKG çekildiği, dopaminle 5000 cc. mayi gönderildiği, siprofloxacine devam edildiği kaydedilmiştir. Akşam vizi-

tinde TA: 130/90 mmHg, genel durumunun daha iyi olduğu, akciğerde rallerin duyulduğu, hırıltılı solunumun devam ettiği muayenede tespit edilmiştir. 100 cc. mediflex içinde furosemide, 24 saatte gidecek şekilde başlanmıştır. Saat 17.45'te hastanın hırıltılı solunumunun belirginleşmesi üzerine, 2 ampul furosemide puşe edilip, % 5 dextroz içinde perlinganit başlanıp tedavisi yeniden düzenlenmiştir. Saat 20.00'de arrest olduğu, entübe olarak intaniyeden geldiği, mekanik ventilatöre bağlandığı, saat 21.45'te tekrar kardiyak arrest geliştiği ve resusitasyona yanıt vermediği, sonuç olarak hastanın öldüğü, ölüm nedeninin akut gastroenterit, solunum yetmezliği ve kalp yetmezliği olduğu, 05.09.2005 çıkış tarihli tıbbi ölüşahade evrakına kaydedilmiş ve belirtilmiştir.

Cumhuriyet Başsavcılığı ölen kişinin yediği yemekten dolayı bir zehirlenme sonucu mu yoksa kendinde mevcut bir rahatsızlıktan dolayı mı öldüğü sorusuna yanıt alınmak üzere Adli Tıp Kurumu başkanlığına dosya iletilmiştir.

Adli Tıp Kurumu Başkanlığı 1. İhtisas Kurulu yanıt olarak "Düzenlenen adli ve tıbbi belgelere dayanarak; otopsi yapılarak iç organ değişimleri araştırılmamış, kimyasal inceleme yapılmamış, yediği iddia edilen bazı besinlerin mikrobiyolojik ve toksikolojik incelemeleri yapılmamış olmakla birlikte kendisinde başka bir hastalık olduğuna dair tıbbi belge bulunmayan kişinin ölmeden önceki kliniği ve olayda zehirlenme belirtileriyle başvuran kişilerinde tedavi görmesi dikkate alındığında ölümün besin zehirlenmesi ve gelişen komplikasyonlardan ileri geldiğinin kabulü gerektiği oy birliği ile mütalaa edilmiştir" yönünde karar bildirmiştir.

Savunma makamı; esas yönünden şunları belirtmiştir:

1. Ölen kişinin yemek yediğini iddia ettiği şirkette işçi çalışması olmadığını; ölümü ile şüphelinin tedarik ettiği yemek arasında nedensellik bağı kurulamayacağı,
2. Yemek şirketinin 03/09/2005 tarihli yemek listesindeki menü incelendiğinde (1) Düğün Çorba, (2) Karnıyarık, (3) Melek Pilavı ve (4) Cacık olduğu görülmektedir. Ancak bu 4 yemeğin Gıda Kodeksine uygun olduğu, dava dosyasına sunulan raporlarla belirlenmiştir.
3. Adli Tıp Kurulu raporunda şüphelinin tedarik ettiği tereyağı, peynir ve pasta hamuru tatlısının (kadayıf) Gıda Kodeksine uygun olmadığı belirlenmiştir. Ancak, 03/09/2005 tarihli yukarıda belirtilen yemekler arasında ne kadayıf, ne tereyağı, ne de peynir vardır.
4. Kaza tarihinde, Ankara'da yoğun kolera ve ishal olayları yaşanmıştır. Bu tarihlerde Sağlık Bakanlığı'nca yapılan kolera duyuruları vardır. Sağlık Bakanlığı'ndan bu konuda bilgi istenilmesi,
5. Ölen kişi, akciğerlerinden rahatsız olduğu için emekliye

ayrılmıştır. Nitekim Adli Tıp Kurulu raporunda, ölüm nedeninin “AGE + solunum ve kalp yetmezliği” olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle ölen kişinin ölüm nedeni gıda zehirlenmesine bağlanamaz.

6. Adli Tıp Kurulu raporunun sonuç bölümünde ölen kişinin “... Otopsi yapılarak iç organ değişimleri araştırılmamış, kimyasal inceleme yapılmamış, yediği iddia edilen bazı besinlerin mikrobiyolojik ve toksikolojik incelemeleri yapılmamış” olduğu varsayımından hareketle ölümün besin zehirlenmesi ve gelişen komplikasyonlardan ileri geldiği, ölüm nedeninin “AGE + solunum ve kalp yetmezliği” olduğu tespit edildiği halde ölüm nedeninin besin zehirlenmesi olduğu sonucuna varılması tıp adına kaygı vericidir. Adli Tıp Kurumu, kıyas yolu ile sonuca varmıştır. Ceza Hukukunda kıyas yolu ile sonuca varılmaz. Çünkü, otopsi yapılmayan, kimyasal incelemeye tabi tutulmayan, solunum ve kalp yetmezliğine bağlı bir ölümden ölüm nedeni besin zehirlenmesine olanak yoktur.

1958 doğumlu; erkek hasta; 03.09.2005 tarihinde arkadaşını ziyaret etmek için işyerine gittiği, öğle yemeğini burada yediği, 03.09.2005 tarihinde kaldırıldığı hastanede 05.09.2005 tarihinde öldüğü, ölümün besin zehirlenmesi ve gelişen komplikasyonlardan ileri geldiği iddia, suçu inkara yönelik savunma, katılan beyanı, Adli Tıp Kurumu 1. İhtisas Kurulunun 21.04.2008 tarihli ölümün besin zehirlenmesinden kaynaklandığını ve nedensellik bağı olduğunu belirtir raporu, toplanan deliller ve dosya içeriği ile anlaşılabilir, yasal unsurları oluşan ve Türk Ceza Kanunu'nun 85/1 maddesinde tanımı yapılan taksirle bir kişinin ölümüne neden olmak suçundan cezalandırılması sonuç ve düşüncesine varılmıştır.

Tartışma

Gıda kaynaklı bir salgın soruşturmasında soruşturmayı yürüten teknik personele önemli görevler düşmektedir. Bu konuda gıda analiz laboratuvarı ve hastaların tedavi gördüğü sağlık kuruluşları ile koordinasyonun iyi yapılması gerekmektedir. Genel olarak, gıda kaynaklı salgınlarda gıda analiz laboratuvarlarına olay hakkında ayrıntılı bir rapor sunulmadığı dikkati çekmektedir. Gıda kaynaklı bir salgının gerçek nedeninin ortaya konulabilmesi ancak ilk soruşturma bilgilerinin, şüpheli örneklere ve etkilenen kişilere ait klinik örneklere (dışkı, kusmuk, kan vs.) ait analiz sonuçlarının birlikte yorumlanması ile mümkündür. Tüm bu bilgilere rağmen bazı olgularda salgının gerçek nedenini belirlemek yine de mümkün olmayabilir. Nitekim Amerika Birleşik Devletleri'nde gıda kaynaklı salgınlarda %9'unda, salgına neden olan etkenin ortaya konulamadığı belirtilmektedir. Gıda kaynaklı bir salgında, salgının gerçek nedeninin belirlenmesi ve olayın tekrar etmemesi için alınacak düzeltici tedbirlerin uygulanması bakımından, ayrıntılı

bir ilk soruşturma raporu hazırlanması, daha sonra gıda analiz laboratuvarına şüpheli örneklerin ve salgın hakkında ayrıntılı bilgilerin teslim edilmesinin kritik önemi bulunmaktadır(1).

Akut gastroenteritli hastalarda; infeksiyöz ishallere sebep olan değişik patojenlerin ayırıcı tanısı çeşitli yöntemler kullanılarak yapılmaktadır. Rutin hematolojik inceleme, biyokimyasal analizler, basit mikroskopik incelemeler ve bakteri kültürleri yapılmaktadır. Rutin dışkı kültürü klasik “altın standart” tanı testi olup, sporadik vakalar ve salgınlarda; antimikrobiyal direnç testi, serolojik tanı yöntemleri, toksin araştırmaları, moleküler biyolojik analizler(DNA problemleri, polimeraz zincir reaksiyonu-PCR, Pulsed Field Gel Electrophoresis-PFGE), alınan biyopsilerin histopatolojik incelemeleri ve sigmoidoskopi, ayakta direkt batin grafisi ve gereğinde batin tomografisi gibi görüntüleme tekniklerinden de yararlanılmaktadır. Tüm tanı olanaklarına rağmen, laboratuvar ne kadar gelişmiş olursa olsun, %30-50 olguda etken saptanamamaktadır(6,10).

Hızlı tanı ve teşhis için özellikle moleküler yöntemlerin kullanılması ve araştırılması gerekmektedir. Mikroorganizmaların izolasyonu, tanımlanması ve kökenler arasındaki ilişkinin belirlenmesi infeksiyon hastalıklarının epidemiyolojisi, çevre ve endüstriyel mikrobiyoloji ve dolaşısıyla mikrobiyal ekolojik çalışmalar da oldukça önemlidir. DNA parmak izi oluşturmayı hedefleyen moleküler tipleme yöntemleriyle epidemiyolojik olarak ilişkili, aynı tür içindeki izolatların genetik olarak da ilişkili olup olmadıkları araştırılmaktadır. İzolatlar aynı mı, farklı mı sorusuna yanıt aranmaktadır. Genel olarak; epidemiyolojik yönden ilişkili izolatlar, klonal olarak da ilişkili olup, ortak bir kaynaktan köken alır. Klonal ilişkinin ortaya konulmasıyla epidemik izolatlar; sporadik veya endemik olanlardan ayrılmakta, salgınla ilişkili suşlar belirlenmekte, salgının kapsamı, kaynak ve rezervuarı hakkında bilgi edinilebilmekte, halk sağlığı kontrolünde kullanılmaya üzere ulusal ve uluslararası salgınlarda veri bankaları oluşturulabilmekte ve herhangi bir yer ve zaman içindeki infeksiyonun özellikleri (lokal infeksiyonun reaktivasyonu veya yeni bir infeksiyonun kümeleşmesi gibi) tanımlanabilmektedir. Salgının özellikleri belirlenerek, kimin nerede, ne zaman, ne ile ve nasıl etkilendiği, bulaş yolları, potansiyel kaynak ve vektörlerin tanımı yapılabilmektedir (11).

Moleküler mikrobiyoloji çalışmalarında; 100 bp'den 50 kb'ye kadar olan DNA moleküllerini ayırt edebilmek için, standart jel elektroforezi kullanılmaktadır. Fakat; 50 kb üzerindeki DNA moleküllerini tespit etmek bu yolla mümkün olamamaktadır. Böyle büyük DNA molekülleri, Pulsed Field Gel Electrophoresis ile ayırt edilebilmekte ve genotipleme yapılabilmektedir. Kesim enzimleri ile elde edilen memeli, parazit, mantar ve bakteri genomik DNA par-

çası, Pulsed Field Gel Electrophoresis ile analiz edilebilmektedir. Organizmaların genom boyutu ve genetik haritaları hakkında bilgi edinebilmekte, suşları ayırt edilebilmektedir. Pulsed Field Gel Electrophoresis tekniği ile aynı türün farklı suşları tespit edilebilmektedir (12,13). Bu metod ile 2 veya daha fazla kişiden alınan farklı örneklerdeki sorumlu olan bakteri kaynağı ayırt edilebilmekte ve enfeksiyonun sporadik olup olmadığı belirlenebilmektedir (14). Pulsed Field Gel Electrophoresis yöntemi, bakteriyel gıda kaynaklı (*E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter*) patojenlerin alt tiplendirilmesi için altın standart olup, duyarlılığı ve özgüllüğü oldukça yüksektir. Bu metod ile tiplendirme 3–4 gün içinde hızlı ve güvenilir bir şekilde yapılabilir (7).

İnsanlarda gıda kaynaklı yaygın gastroenterit oluşturan mikrobiyolojik ajanlardan en önemlilerinden biri *S. enterica* serovar *enteritidis*'tir. Epidemiyolojik çalışmalarda *Salmonella* enfeksiyonların yayılımının hızlı tespitinde ve tiplendirilmesinde, PFGE yöntemi oldukça etkilidir (12).

Türkiye'de; 1981–2005 yılları arasında yapılan bazı çalışmalar incelendiğinde, *Salmonella* bakterilerinin dışkıdan izolasyon oranının genel olarak %2-11 arasında olduğu ve gastroenterit etkeni *Salmonella* serotipleri içinden öne çıkanların yıllar içinde değiştiği görülmektedir. Ülkemizde 1980'li yıllarda izole edilen *Salmonella* suşlarının %70-90'ı *S. typhimurium* iken; 1990'lı yılların başında, önceki yıllara göre *S. enteritidis* daha sık görülmeye başlamış ve bir çok bölgede 1990'lı yılların ikinci yarısından itibaren *S. typhimurium*'a göre daha sık izole edilir olmuştur(8).

Salmonella enfeksiyonlarının önemi nedeniyle (ki bizim çalışmamızda yer alan olgularda kültürde *S. enteritidis* üremiştir); kontamine kaynağını belirlemek için birçok yöntemler geliştirilmiş, bunlardan PFGE yöntemi oldukça duyarlı, özgül, hızlı, güvenilir ve etkili bir metod olarak, *Salmonella* türlerinin alt tiplendirmesinde "altın standart" olarak kabul edilmiştir(15).

Salmonella bakterilerinin serotip (serovar) sayısı bugün 2500'e yaklaşmıştır. Rutin mikrobiyoloji laboratuvarları, kendi olanaklarına göre sadece o ülkede en sık görülen serotiplerin faktör serumlarını kullanarak serotiplendirme yapmaktadırlar. Ancak bir *Salmonella* serotipinin antijen yapısını belirlemenin o kadar basit bir işlem olmadığı, deneyim gerektirdiği, yoğun iş yükü altında ve kısıtlı olanakları olan rutin laboratuvarlarında büyük olasılıkla yanlışlıklar yapılabildiği ve bu nedenlerle ülkemizin Ulusal bir *Salmonella* Merkezine gereksinimi olduğu bildirilmektedir(8).

S. enterica subsp. *enterica* serovar *enteritidis*, insanlarda gıda kaynaklı enfeksiyonlara neden olan ve son yıllarda tüm dünyada giderek önemi artan bir *Salmonella* türüdür. Enfeksiyonun insanlara bulaşmasında *S. enteritidis*

ile kontamine tavuk et ve yumurtaları önemli bir rol oynamaktadır. Türkiye'de 2000 ve 2002 yılları arasında insanlardan izole edilen *Salmonella* suşlarının %47'sinin *S. enteritidis* olduğu bildirilmiştir. Son yıllarda farklı bölgelerde yapılan çalışmalarda tavuk etleri ve tavuklardan en fazla izole edilen *Salmonella* türü *S. enteritidis* olarak tespit edilmiştir(16).

Gerek insanlardan ve gerekse hayvanlardan *S. enteritidis*'in izolasyon oranının artmasına paralel olarak, bu etkenin alt tiplerinin belirlenmesi ve moleküler karakterizasyonu ile ilgili çalışmalar önem kazanmıştır. 1950 yılından itibaren faj tiplendirme yöntemi epidemiyolojik çalışmalarda kullanılmıştır. Klasik yöntem olan faj tiplendirmenin yanında, PFGE, Plazmid Profil Analizi, Ribotipleme, Random Amplified Polymorphic DNA ve Restriction Fragment Length Polymorphism gibi moleküler yöntemler de kullanılmıştır. Moleküler tiplendirme yöntemleri suşlar arasında klonal ilişkiyi ortaya koyarak salgınların kaynağı, bulaşma yolları ve bulaşma dereceleri hakkında bilgiler sunmaktadır. Moleküler yöntemler arasında PFGE yönteminin ayırım gücünün oldukça yüksek olduğu ve altın standart yöntem olarak kabul edildiği bildirilmektedir (16).

Şimşek ve arkadaşlarının bildirdikleri bir salgın raporuna göre, Ankara'da bir işyerinde 28–29 Eylül 2004 tarihlerinde karın ağrısı, ishal şikayetleri ile kurum tabipliğine başvuran personel sayısında artış olması üzerine, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü'ne başvurulmuştur. Bu bildirim üzerine; Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü tarafından, 30 Eylül 2004 tarihinde salgın şüphesiyle epidemiyolojik ve mikrobiyolojik inceleme başlatılmıştır. 122 personelden; 43'ünde(%35.3) hastalık bulguları olduğu saptanmıştır. 122 kişinin 14'ünden(%11.5) dışkı örneği alınabilmiştir. İncelemeye alınan 14 dışkı örneğinden; 7'sinde *Shigella* spp. izole edilmiştir. Bunların 1'i *Shigella flexneri* tip 6, 1'i *S. boydii* tip 4, 1'i *S. boydii* tip 16, 1'i *S. boydii* tip 13, 1'i *S. sonnei* faz 1 ve 1'i *S. sonnei* faz 2 olarak tiplendirilmiştir. Örneğin 1'i ise tiplendirilememiştir. Patojen etken üremeyen kişilere ait dışkı örneklerinin mikroskopik incelemesinde; 2 kişide *Blastocystis hominis*, 1 kişide *Giardia intestinalis* kistleri saptanmıştır. Mutfak personeline araştırma tarihlerinde herhangi bir gastroenterit bulgusu olmadığı belirlenmemiştir. Toplam 7 mutfak personeline ait dışkı örneklerinin birinden *S. flexneri* tip 6 izole edilmiş, birinin ise mikroskopik incelemesinde *B. hominis* kistleri olduğu saptanmıştır. Mutfak personelinin ve bir hastadan izole edilen *S. flexneri* tip 6'nın yapılan antibiyotik duyarlılık testi ve plazmit analizleri sonucunda birbirlerinden farklı oldukları belirlenmiştir. 28 Eylül 2004 tarihindeki yemek listesi; romen çorba, yoğurtlu ıspanak, soslu makarna, salata, meyve, dondurma ve komposto, 29 Ey-

lül 2004 tarihindeki yemek listesi ise; mantar çorba, ızgara köfte, karışık kızartma, salata, meyve, yoğurt ve keşkülden oluşmaktadır. Bu yemeklerden alınan numunelerin mikrobiyolojik incelemesinde ise; salata, karışık kızartma ve keşkül örneklerinde *E. coli* izole edilmiştir. Kurum tarafından alınan gıda örneklerinin usulüne uygun alınıp alınmadığı bilinmemekle birlikte, yemeklerden ve hasta dışkı örneklerinden farklı etkenler izole edilmiş ve birbirleri ile bağlantılı olmadıkları düşünülmüştür. Epidemiyolojik verilerin analizine göre; bu yemekler ile vakalar arasında keşkül dışında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır(17). Şimşek ve arkadaşlarının makalelerinde, yemekler ile vakalar arasında anlamlı bir ilişki bulunamama sebepleri şu şekilde açıklanmıştır; Shigella türlerinin geçiş yolları değerlendirildiğinde, bunun tesadüfî bir ilişki olduğu düşünülmüştür. İzole edilen Shigella türlerinin farklı serogrup ve serotiplere ait olması nedeniyle, vaka kümelenmesinin birden fazla mikroorganizma ile kontamine olmuş su ile yıkanan çiğ sebze ve meyvelerden kaynaklanmış olabileceği ya da hastaların mikrobiyolojik inceleme kapsamı dışında kalan ortak bir toksijenik veya viral etkene maruz kaldıkları ve buna Shigella türlerinin tesadüfî olarak eklenmiş olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca hastalanan bireylerin iş yaşamı dışındaki günlük hayatları sırasında farklı kaynaklardan değişik etkenlere maruz kalarak hastalanabilecekleri ihtimali de akla gelmektedir (17).

Danimarka'da Eylül 2003-Mart 2004 tarihleri arasında vero sitotoksin üreten *E. coli* VTEC O157'nin neden olduğu salgından 18'i çocuk 7'si erişkin olmak üzere toplam 25 kişi etkilenmiştir. Bunların 6'sı erkek, 19'u kadındır. Salgın, Kopenhag'ın belli bir alanında sınırlı kalmıştır. Hastaların başlıca semptomları abdominal kramp ve ishal olup böbrek yetmezliği izlenmemiştir. Dışkı kültürlerinden izole edilen mikroorganizmaların hepsinde aynı genetik özellikler saptanmıştır. 15 Ocak 2004'ten sonra hastalananlar ve kontrol grubu olarak alınan 55 kişi ile görüşmeler yapılmıştır. 11 hastanın 8'i primer vaka, 3 tanesi ise sekonder vaka olarak tanımlanmıştır. Primer hastaların 7'sinin belirli bir süpermarketten yiyecek aldığı tespit edilmiştir. Enfeksiyon riskinin artmasında etkili olabilecek başka bir market zinciri saptanamamıştır. Görüşmelerde enfeksiyon riskindeki artışla alakalı olan tek yiyecek, günlük süt olarak düşünülmüştür. 39 kişilik kontrol grubundan ve 8 kişilik primer vakadan 5'inin şüpheli sütü içtiği belirlenmiştir. Primer vakaların 3 tanesi buradan süt içip içmediğini hatırlayamamıştır. Salgının şüpheli süt ürünlerini satan bir süpermarket zincirinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Sütün çok düşük miktarlarda *E. coli* VTEC O157 ile kontamine olduğundan şüphelenilmiştir. Danimarka Veterinerlik ve Gıda Dairesi'nce 26 Mart'tan itibaren geçici bir süre mandıradan süt satımı ve üretimi durdurularak ortam te-

mizlenmiş, pastörizasyon ısısı arttırılmış ve bundan sonra başka vakalar görülmemiştir. Mandıra *E. coli* VTEC O157 kontaminasyonu yönünden araştırılmış, ancak bir sonuca ulaşılamamıştır. Günlük sütü sağlayan sütçünün sürüsünde ileri araştırmalar planlanmıştır(18).

İshale neden olan barsak patojeni *E. coli* subtipleri; EPEC, EHEC, ETEC, EIEC ve enteroaderan EAEC'dir. *E. coli*'nin barsak patojeni olan suşları, genellikle gelişmekte olan ülkelerin çoğunda endemik olarak bulunurlar. Enterohemorajik *E. coli* infeksiyonları ise, başta gelişmiş ülkeler olmak üzere dünyanın pek çok yerinde görülmektedir. Bu bakterilerin tanısı için; dışkıdan bakterinin izolasyonu tek başına bir anlam ifade etmez, virulan tiplerini ayırt edebilecek spesifik moleküler testlere gerek duyulur. Bu sebeble, çoğu mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin olarak identifiye edilememektedirler(8).

Sonuç

Bizim çalışmamızdaki vakamızda; yemek için kullanılan su ve yemeklerde herhangi bir bakteriyolojik üreme olmadığı, yemek yapımında kullanılan maddelerin örneklerinde ise *E.coli*, *S. enteritidis*, *S. aureus* ürettiği saptanmıştır. Hastaneye başvuran hastaların 16'sında *S. enteritidis* ürettiği saptanmış, bu hastalardan 1'i, 05.09.2005 tarihinde yaşamını yitirmiştir. Ölümün besin zehirlenmesi ve gelişen komplikasyonlardan olduğu iddiasının yanıtını verecek yemeklerden ve hasta dışkı örneklerinden alınan etkenler izole edilmiştir. Ancak; bu yemekler ile vakalar arasında anlamlı bir ilişkiyi açıklayacak olan mikroorganizmaların izolasyonu, tanımlanması ve kökenler arasındaki ilişkinin belirlenmesini sağlayan, aynı tür içindeki izolatların genetik olarak da ilişkili olup olmadığı, izolatlar aynı mı, farklı mı sorusunu yanıtlayabilecek olan, özellikle PFGE gibi moleküler tanı ve teşhis yöntemleri uygulanmamıştır. Bu sebeple de; epidemiyolojik yönden ilişkili izolatların, klonal olarak belirlenememesiyle, salgının kaynak ve rezervuarı hakkında bilgi edinilememiştir.

Sonuç olarak; dünyada ve ülkemizde besin sektörü giderek gelişmekte olmasına rağmen, hala gıda kaynaklı salgınlar görülmektedir. Gıda kaynaklı salgınlar adli davalara konu olabilmektedir. Adli açıdan vakaların çözülebilmesi, halk sağlığı açısından salgının kontrol edilebilmesi ve hastaların en kısa sürede uygun olarak tedavi edilebilmesi için; salgına sebep olan mikrobik etken veya toksinin belirlenebilmesi gerekmektedir. Bu sebeple; hem hastalardan hem de gıdalardan örnekler alınmalı, etkenin hızlı ve güvenilir bir şekilde belirlenebilmesi için moleküler yöntemler dahil mevcut bütün mikrobiyolojik tanı yöntemleri kullanılmalıdır. Özellikle; *S. enteritidis* gibi sık rastlanan bakterilere bağlı salgınlarda, salgın kaynağında tespit edilen bakteri ile hastalardan izole edilen bakterinin aynı

olup olmadığı hızlı ve güvenilir, *S. enteritidis* açısından altın standart olan PFGE gibi moleküller yöntemlerle daha doğru şekilde ortaya konmalıdır. Doğal olarak salgın kaynağı ortaya konduktan sonra önleyici tedbirler almak daha kolay olmaktadır.

Adli olguların kontrolünde kullanmak üzere; zehirlenme vaka örneklerine ait veri bankaları oluşturulmalı, saklanmalı ve herhangi bir yer ve zaman içindeki enfeksiyonun özellikleri tanımlanabilmesinde kullanımı sağlanmalıdır.

Kaynaklar

1. Ayçiçek H., Aktan H.T.; Besin Hijyeni ve Teknolojisi B.D. Gıda Kaynaklı Salgınlarda Soruşturma İlkeleri; Türk Hij Den Biyol Derg; 2003; 60(3):95-99.
2. İnternet erişim; 21.05.2011;
http://www.rshm.gov.tr/index.php?option=com_content&task=view&id=322&Itemid=1
3. Hamer DH.; IDCP guidelines; Infectious diarrhea (Part II) and food poisoning; Infect Dis Clin Pract; 1997; 6:141-146.
4. U.S. Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition; Bacteriological Analytical Manual Online; January 2001; 25.
5. İnternet erişim; 21.05.2011; Foodborne Infections;
http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/foodborneinfections_t.htm
6. Levent B.; Enfeksiyöz İshaller; Aylık Epidemiyoloji Raporu; Mayıs-Haziran-2005; 4(3). 1-3
7. Ribot E.M., Fair M.A., Gautom R., Cameron D.N., Hunter S.B., Swaminathan B., Timothy B.J.; Standardization of Pulsed-Field Gel Electrophoresis Protocols for the Subtyping of Escherichia coli O157:H7, Salmonella, and Shigella for PulseNet; Foodborne Pathogens and Disease; 2006; 3(1); 59-67.
8. Öngen B.; Türkiye’de İshal Etkenleri; ANKEM; 2006;20(2):122-134.
9. Dorman V., Aslan S., Ceylan A., ve ark.; Aynı fabrikadan yemek alan iki inşaat firması işçilerinde meydana gelen toplu besin zehirlenmesi; Dicle Tıp Derg, 37(3): 248-253
10. İnternet erişim; 21.05.2011; Akut Gastroenteritlerde Tanı;
<http://www.gata.edu.tr/dahilibilimler/enfeksiyon/kitaplar/age/AGE-Part4.htm>
11. İnternet erişim; 21.05.2011; Durmaz R.; Hastane İnfeksiyonu Salgınında Moleküler Biyolojik Yöntemler;
http://www.hastaneinfeksiyonlaridergisi.org/managete/fu_folder/2005-04/html/2005-09-4-196-202.htm
12. Garaizar J., Lo’pez-Molina N., Laconcha I., Baggesen D.L., Re-

menteria A., Vivanco A., Audicana A., Perales I.; Suitability of PCR Fingerprinting, Infrequent-Restriction-Site PCR and Pulsed-Field Gel Electrophoresis, Combined with Computerized Gel Analysis in Library Typing of Salmonella enterica serovar enteritidis; Applied and Environmental Microbiology; 2000; 66(12): 5273–5281.

13. Basım E., Basım H.; Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) Technique and It’s Use in Molecular Biology; Turk J Biol.; 2001; 25:405-418.

14. Long S.G., DuPont H.L., Gaul L., Arafat R.R., Selwyn B.J., Rogers J., Casey E.; Pulsed-Field Gel Electrophoresis for Salmonella Infection Surveillance, Texas, USA, 2007; Emerging Infectious Diseases; 2010; 16(6):983-985.

15. Kotetishvili M., Stine O.C., Kreger A., Morris J.G., Sulakvelidze A.; Multilocus Sequence Typing for Characterization of Clinical and Environmental Salmonella Strains; Journal Of Clinical Microbiology; 2002; 40(5):1626–1635.

16. Kalender H., Şen S.; Tavuk Etleri Ve Tavuklardan İzole Edilen Salmonella enterica Subsp. Enterica Serovar Enteritidis Suşlarının Faj Tiplendirilmesi Ve Pulsed-Field Gel Electrophoresis İle Analizi; İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.(J. Fac. Vet. Med. Istanbul Univ.); 2008; 34(2): 15–24.

17. Şimşek H., Gözalan A., Levent B, Kurtoğlu D., Kayalı R.; Bir İşyerinde Saptanan Shigella kaynaklı vaka kümelmesi, Ankara; Aylık Epidemiyoloji Raporu; Ekim-Aralık 2004; 3(4).

18. Kayalı R.; Danimarka’da Süte Bağlı Verositotoksin Üreten E.Coli O157 Salgını; Aylık Epidemiyoloji Raporu; 2004; 3(2).

Sorumlu Yazar: Dr. Selçuk YAKIŞTIRAN

T.C. Sağlık Bakanlığı

Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı

Ulusal Zehir Danışma Merkezi

Ankara-Türkiye

Tel: 0 (312) 458 23 16

E-mail: yakistiran@yahoo.com

Akuaporinlerin Beyindeki Rollerini

The Role of Aquaporins in Brain

Gülfer ÖZTÜRK, Namık DELİBAŞ

Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya Kliniği, Ankara - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 27.07.2011

Kabul Tarihi: 13.09.2011

Özet

Beyinde su dengesinin regülasyonu önemlidir. Membran su kanalı olan Akuaporinlerin (AQP) keşfi beyin su homeostazisinin fizyoloji ve patolojisinin daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır. AQP1, AQP4 ve AQP9 normal beyin ve beyin patolojilerinin kemirgen modellerinde gösterilmiştir. AQP'ler astrosit migrasyonunu hızlandırır, nöronal aktiviteyi değiştirir ve apoptoziste rol oynar. Bu derlemede Akuaporinlerin beyindeki rolleri gözden geçirilecektir.

Anahtar kelimeler: Akuaporinler, beyin ödemi, astrosit

Abstract

The regulation of water balance in the brain is crucial. The discovery of the aquaporin family of membrane water channels has provided important new insights into the physiology and pathology of brain water homeostasis. The presence of three water channels, AQP1, AQP4 and AQP9 were observed in normal brain and several rodent models of brain pathologies. AQPs accelerate astrocyte migration, alter neuronal activity and play a role in apoptosis. In this review, role of aquaporins in brain will be overviewed.

Keywords: Aquaporins, brain edema, astrocyte

Giriş

Sabit hacmin sürdürülmesi hücrelerin homeostazisi için çok önemlidir. Hücre su içeriğindeki küçük değişiklikler bile zincirleme sinyal aktarımını, hücreler arası iletişimi ve hücre içi değişimleri düzenleyen molekülleri etkileyebilir. Hücreler arası kompartmanlardaki yapı su içeriğindeki kontrolsüz değişiklikler tarafından bozulabilir.

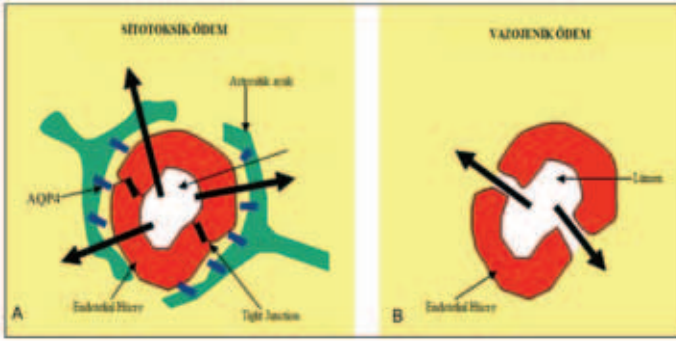
Hücre hacmindeki bu değişiklikler hem fizyolojik hem de patolojik durumlarda meydana gelebilir. Hücre dışı sıvı ozmolaritesi renal sistem tarafından kontrol edilir. Patolojik

durumlar sistemik ozmolarite veya ozmotik olarak aktif solütlerin dağılımını etkileyebilir. Fizyolojik durumlarda, hücre içi hacim sürekli olarak lokal ve geçici olarak nütrient alımı, sinaptik fonksiyon, sekresyon ve sitoskeletal biçimlenme tarafından mikrogradientin yenilenmesinden etkilenir (1,2,3).

Beyinde, su dengesinin regülasyonu, oluşabilecek dramatik sonuçlar nedeniyle çok önemlidir. Normal olarak su transportu beyin dokusu ve beyin omurilik sıvısı arasındaki dengenin sürdürülmesi ile düzenlenir. Bu dengenin bozulması beyin su içeriğinin artmasına neden olur. Kafatası-

nın, intrakranial hacim değişikliklerini tolere etme kapasitesi sınırlıdır. Bu da intrakranial basınç artışına neden olarak, beyin hasarı ve ölümlerle sonuçlanabilir (4).

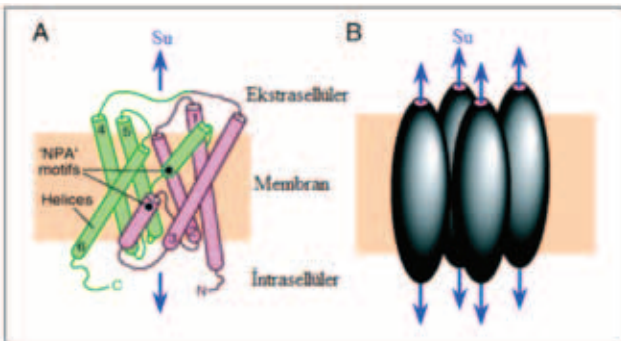
Beyin ödemi, kan beyin bariyeri bozukluğu sonucunda olduğu zaman vazojenik, kan beyin bariyerinde rüptür olmaksızın patolojik durumlardan kaynaklandığında ise sitotoksik ödem olarak iki grupta sınıflandırılır. Çoğu patolojiler, ödem tiplerinden biri ile başlar ve kademeli olarak diğerine dönüşerek sonuçlanır (5).



Şekil 1: Beyin ödemi mekanizmaları
A) Sitotoksik Ödem B) Vazojenik Ödem (6).

Akuaporinler (AQP) olarak adlandırılan su kanal proteinleri, integral membran proteinleri ailesine ait olup memeli hücre membranlarında porlar şeklinde bulunurlar (7). 1988 yılında akuaporin 1 olarak adlandırılan ilk su kanalını Peter Agre keşfetti (8) ve ardından 2003 yılında Nobel kimya ödülünü almaya hak kazandı. Akuaporin 1 ekspresyonu gösteren "Xenopus" Oositlerinin AQP1 ekspresyonu göstermeyenlere göre osmotik lizise çok daha hassas olduğu gösterildi (9).

Akuaporinler hücre membranlarında tetramer yapıda bulunurlar. Her bir monomer yaklaşık 30 kDa büyüklüğündedir. Her iki yöne su transportu sağlayabilen su porlarını çevreleyen altı adet transmembran segmentten oluşur. Ayrıca NPA motifleri olarak adlandırılan, asparajin, prolin ve alanin amino asitlerinden oluşan iki adet kısa segmente sahiptir. Bu kısa segmentler porun ortasında bulunur (Şekil 2)(10).



Şekil 2: A) AQP 1 monomerlerinin yapısı
B) Membrandaki tetramerik yapı (10).

Bugüne kadar memelilerde 13 adet akuaporin bulunmuştur. İki altgruba ayrılırlar.

1. Özellikle suya geçirgen olan akuaporinler (AQP 0,1,2,4,5).
2. Suyu birlikte gliserol ve üre gibi küçük nonpolar solütlere geçirgen olan akuagliseroproteinler (AQP 3,7,9,10).

Çoğu akuaporin iyonlara geçirgen değildir. İyona geçirgen (AQP 6, 8) veya akuaporin protein ailesinin yapısal özelliklerini kaybetmiş (AQP 11,12) olanlar bu sınıflandırmanın dışında tutulabilir (11). AQP 1, 3, 4, 5, 8, 9 olmak üzere şimdiye kadar kemirgen beyin hücrelerinde altı adet akuaporin varlığı gösterilmiştir. Bunlardan AQP 1, 4 ve 9'un fonksiyonları daha iyi tanımlanmıştır (12).

AQP1 koroid pleksus epitelinin apikal membranında eksprese edilir. Serebral ventriküllere beyin omurilik sıvısı (BOS) sekresyonu buradan olmaktadır.

AQP 4 beyin parankimi ile BOS kompartmanları arasında su transportunda önemli rol alan serebral ventrikül endipimal hücrelerinin bazolateral membranında eksprese edilmektedir. Bunun dışında serebral kan damarları ile direkt temas eden astrositik yaklarda da eksprese edilir (4).

AQP 9'un beyin enerji homeostazisinde önemli rolü olduğu (12) ve katekolaminerjik nöronlarda ve astrositlerde eksprese edildiği Badau ve arkadaşları (13) tarafından gösterilmiştir.

Akuaporinler, serebral ödemin oluşmasında ve rezolüsyonunda önemli bir role sahiptir (14, 15).

Travmatik Beyin Hasarı ve Akuaporinler

Travmatik beyin hasarı (TBH) sıklıkla sitotoksik ödemle sonuçlanır. Travma direkt etki olarak, travma sonrası yaygın depolarizasyona yani, intrasellüler sodyum ve klor artışı, ekstrasellüler potasyum artışı ve hücreye sürekli su girişi ile sonuçlanır. Travma mekanik olarak membranları deforme eder. Hücre içi su artışına yol açarak iyon geçirgenliğinde değişikliklere neden olur. Dolaylı olarak ise antidiüretik hormon sekresyonunun bozulması sonucunda hiponatremi oluşturabilir (16).

Yapılan çok sayıda çalışmada AQP 4 ekspresyonu hem deneysel, hem de klinik beyin hasarında değişiklikler göstermiştir (15,17,18,19). Kanalların genetik varyasyonları ödemin derecesini etkiler (20). Deneysel TBH sonrası AQP 1 ve AQP 4'ün arttığı gösterilmiştir (21,22).

Oliva ve ark. yaptıkları deneysel TBH çalışmasında, ipsilateral parietal kortekste AQP 1 ve AQP 9'un önemli miktarlarda arttığını, ancak AQP 3 ve AQP 4'de değişiklik gö-

rülmediğini bulmuşlardır (23). Sitotoksik ödemin fare modellerinde AQP4 delesyonu ödem formasyonunun oluşmasını azaltarak koruyucu etki göstermiştir (24). Vazojenik ödemde ise AQP 4 delesyonu ödemin klirensini azaltır ve hastalığın progresyonunu olumsuz yönde etkiler (25).

AQP 4'ün jeneralize inhibisyonu bu gibi durumlarda yararlı olmayabilir. AQP4 aktivatörleri ödemin vazojenik komponentinin temizlenmesinde rol oynarken AQP4 inhibitörleri sitotoksik ödemde beyni koruyucu etkiye sahip olabilir (26).

Apoptozis ve nekroziste akuaporinler

Hücre hacmindeki değişiklikler nekrotik ve apoptotik ölüm arasındaki farkı ayırmak için önemlidir. Hücre şişmesi nekrotik ölümün karakteristiğidir. Nöronal apoptotik ölüm beynin gelişim sürecinde başarılı bağlantıları yapılandırmak için fizyolojik sürecin bir parçasıdır. Özellikle beyin travmalarında, matür beyinde apoptotik ölüm akut ve kronik nöropatolojik süreçlerle ilişkilidir. Hücre küçülmesi apoptotik ölümün belirtisidir ve apoptotik sinyal zincirinin bir parçası olduğu düşünülür. Bu nedenle apoptozis ve nekrozis, akuaporinlerin önemli rol oynadığı hücre olaylarıdır.

Nekrotik ölüm, kaza olaylarının sonucu olarak beyin hücrelerinde meydana gelebilir. Kafa travmaları nekrotik hücre ölümüne yol açan en yaygın nedenler arasındadır. Kan damarlarının obstrüksiyonu veya rüptüre olması, glikoz ve oksijen yetersizliğine sebep olarak enerji yetmezliğine yol açar, ATP sentezinde azalma enerji bağımlı Na/K ve Ca ATPaz'ın bozulmasına neden olur. Yetersiz tamponlama nedeniyle hücre dışı K ve glutamat artışı ile birlikte hücre içi Ca artışı meydana gelir. Böylece kontrolsüz Na, K ve Cl birikimi nekrotik hücre şişmesinin son nedenini oluşturur. Ca birikimi, hücre ölümü ile sonuçlanan bu olaylar zincirinin oluşumunu alevlendirir.

Apoptozis, bir grup biyokimyasal olaylar sonucu meydana gelir. Bunlardan biri apoptotik hacim azalması olarak adlandırılan hücre hacminin karakteristik azalmasıdır. Apoptotik hacim azalması, tüm hücre tiplerinde bulunan ve farklı mekanizmalar tarafından apoptozisin indüklenmesinde gözlenen apoptotik sürecin değişmez bir özelliğidir. Apoptotik hücre bulguları kaspaz 3 aktivasyonu, sitokrom c salınımı ve translokasyonu, endonükleaz aktivasyonu ve DNA fragmantasyonudur (27, 28).

Akuaporinlerin yarı ömrü ubikuitinler (Ub) aracılığı ile düzenlenir. Ub bağımlı yolların, hücre farklılaşması, DNA tamiri, transmembran ve veziküler taşıma, stres cevabı ve apoptozis gibi çeşitli biyolojik sistemlerde major

rol aldığı gösterilmiştir. Hedef proteinler önce ubikuitinlenir ve daha sonra proteozom tarafından yıkılır. Akuaporinlerin de ubikuitinlendiği ve proteozomlar tarafından parçalandığı gösterilmiştir. Stres durumu altında bulunan hücrelerde protein sentezi azalırken ubikuitin sentezi artmaya eğilimlidir. Hipertonik stres altında, hücresel ubikuitinleşme artarken, AQP1'in ubikuitinleşmesinde azalma ve böylece yarı ömrünün uzayarak 24 saatin üzerine çıktığı gösterilmiştir (29).

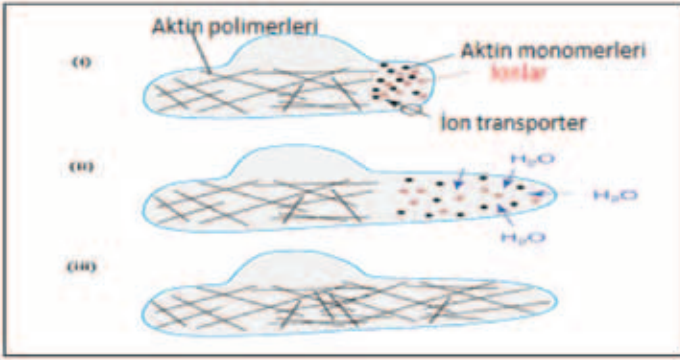
Beyin hücrelerinde oluşan apoptotik hacim azalmasında akuaporinlerin rolü hakkında bilgi azdır. Jablonski ve arkadaşları farelerin kortikal nöronlarında laktasistinle oluşturulan apoptozis sonucunda AQP 1 ekspresyonunun 6. saatte arttığını, 12. saate kadar sabit kaldıktan sonra azaldığını göstermişlerdir. İlginç olarak laktasistinle muamele edilmiş nöronlarda apoptotik sürecin başlangıcından 15 saat sonra nöronlar oluşur. AQP 4 ekspresyonu ve AQP 4 genleri nöronların bu apoptotik modelinde azalır (down regulation). Böylece AQP 1 ve AQP 4 apoptotik hacim azalmasına katkıda bulunur (30).

Astrosit migrasyonu

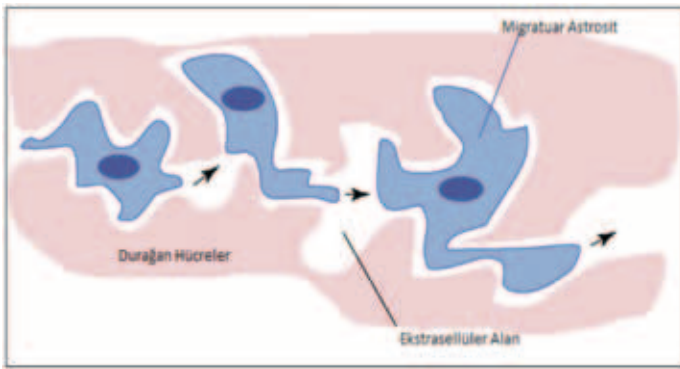
Hücre migrasyonunun düzenlenmesinde akuaporinlerin rolleri ilk kez melanoma tümörü implante edilmiş farelerde AQP 1 ve vasküler endotelial hücreler için rapor edildi (31). Genel olarak akuaporinlerin yokluğu hücre migrasyonunu 2-3 kat yavaşlatır (31, 32, 33).

Hücre migrasyonunda akuaporinlerin sorumlu olduğu moleküler mekanizmalar bilinmemektedir. Bununla ilgili iki teori öne sürülmektedir. İlk teoriye göre migrasyon hücrelerinin ön kenarında aktin depolimerizasyonu ve iyon girişi artar. Bu değişiklik lokal sitoplazma ozmolalitesinin artmasına neden olur. Böylece hücre membranında bulunan akuaporin aracılığı ile hücre içine su girişi gerçekleşir. Hücrenin lokal bölgesinde hidrostatik basınç artışına neden olur. Bu durum, stabilize membran protrüzyonunu sağlamak için aktin repolimerizasyonu ile devam eder. Bu teori, artmış hücre membran hareketinin akuaporin ekspresyonuna sahip göç eden astrositlerin ön uçlarında gözlenmesinin ve ozmotik gradient olduğunda hipoosmolaliteye doğru artmış migrasyonun anlaşılmasını sağlar (32) (Şekil 3).

İkinci teoriye göre göç eden hücreler durağan hücreler arasında düzensiz şekilli hücre dışı sıvı boyunca hareket etmek için hücre şekillerinin ve hücre hacimlerinin hızlı değişimlerine maruz kalırlar. Akuaporinler, hücre hacim değişiklikleri ile membrandan su giriş çıkışının düzenlenmesi aracılığı ile hücre migrasyonunu hızlandırır (Şekil 4)



Şekil 3: AQP içeren hücrelerin astrosit migrasyonunda olası mekanizması (ilk teori).



Şekil 4: AQP içeren hücrelerin astrosit migrasyonunda olası mekanizma (ikinci teori).

Nöronal aktivite

Akuaporin 4 “knock out” fareler, “wild tip” farelerle kıyaslandığında daha yüksek epilepsi eşiğine sahiptir (34). Akuaporin 4 “knock out” farelerin beyinde yüksek potasyum depolarizasyonu sonrası nörotransmitter salınımlarında değişiklikler görülmüştür (35). Nagelhus ve arkadaşları yaptıkları morfolojik çalışmalarda retinada akuaporin 4 ve “inward rectifying” potasyum (Kir) 4.1 kanallarının birlikte lokalize olduğunu göstermişlerdir (36). Binder ve arkadaşları, akuaporin 4 “knock out” farelerde lokal elektrik stimülasyonu sonrası beyin ekstrasellüler alanında potasyum klirensinde gecikme olduğunu göstermişlerdir. Akuaporin 4 “knock out” farelerde beyinde ekstrasellüler alandan potasyum klirensi değişmesi nöronal aktivite değişikliklerinin oluşumuna açıklık getirebilir (37).

Nörodejeneratif Hastalıklar

Nörodejeneratif hastalıkların oluşum süreçlerinde su kanal proteinlerinin olası rollerini gösteren çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ölüm sonrası yapılan mikroskopik incelemeler Alzheimer hastalığında (AH), içeriğinde başlıca amiloid β (A β) bulunan senil plakların ve fosforile tau içeren nörofibriler yumakların beyinde birikimi olduğunu ortaya koymuştur (38). Alzheimer hastalığında AQP1 ekspresyonu-

nun kortikal astrositlerde arttığı gösterilmiştir(39). Yapılan klinik çalışmalarda Alzheimer hastalığında beyin iyon ve su homeostazisinin önemli ölçüde bozulduğu tespit edilmiştir (40). AQP1 eksprese eden astrositler A β plakları ile yakın lokalizasyonda bulunmaktadır (41). AQP1 oksijen, karbondioksit ve nitrik oksid (NO) gibi gazların taşınmasında da rol oynar. Özellikle nitrik oksidin endotel hücrelerinden dışarı taşınması ve vasküler düz kas hücrelerine girişini sağlayan AQP1 endotel bağımlı vazorelaksasyonda önemli bir rol oynar. Alzheimer hastalığında da beyinde NO üretimi önemli oranda artmıştır. Yapılan başka bir çalışmada Alzheimer hastalığında beyinde AQP4 ve Kir4.1 kanallarının gen ekspresyonunun önemli derecede azaldığı bulunmuştur(42).

Parkinson Hastalığı dopaminerjik nöronların progresif kaybı ile karakterizedir. Kupper ve ark. dopaminin kültürde striatal astrositlerin proliferasyonunu düzenlediklerini ve proliferasyonda dopaminerjik etkinde AQP4 aracılığı ile sürdürüldüğünü gösterdiler (43). Yapılan başka bir çalışmada AQP4'e sahip olmayan farelerden yapılan astrosit kültürünün proliferasyonunda bir değişiklik olmadığı belirlendi (33).

Nöromiyelitis optika bilateral optik nörit, akut transvers miyelit ve optik sinir ve spinal kordu tutan inflamatuvar demiyelinizasyonla karakterize görme kaybı ve paraliye neden olan bir sendrom olarak tanımlanır. Perivasküler immunglobulin birikimi olduğu gösterilmiştir. AQP4 oto antikorlarının varlığının nöromiyelitis optikaya neden olduğunu gösteren çalışmaların yanı sıra akut ve kronik nöromiyelitis optika lezyonlarında immunohistokimyasal olarak AQP4'ün yokluğu da çalışmalarda gösterilmiştir (42).

Sonuç

Beyinde akuaporinlerin varlığının gösterilmesi ve fonksiyonlarının tespit edilmesi beyin ödemi, epilepsi ve nörodejeneratif bozukluklar gibi beyinle ilgili birçok hastalığın tedavi yaklaşımlarına katkılar sağlayacaktır.

Kaynaklar

1. Hoffmann EK, Lambert IH, Pedersen SF Physiology of cell volume regulation in vertebrates. *Physiol Rev*2009; 89:193–277.
2. Wehner F, Olsen H, Tinel H, Kinne-Saffran E, Kinne RK Cell volume regulation: osmolytes, osmolyte transport, and signal transduction. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2003; 148:1–80.
3. Lang F, Busch GL, Ritter M.et al. Functional significance of cell volume regulatory mechanisms. *Physiol Rev* 1998;78:247–306.
4. Zador Z, Bloch O, Yao X, Manley GT Aquaporins: role in cerebral edema and brain water balance. *Prog Brain Res.* 2007;161:185-94.
5. Klatzo I. Evolution of brain edema concepts. *Acta Neurochir Suppl (Wien)*1994; 60:3–6.

6. Francesca B, Rezzani R. Aquaporin and blood brain barrier. *Curr Neuropharmacol.* 2010;8:92-6.
7. Badaut J, Ashwal S, Obenaus A. Aquaporins in cerebrovascular disease: a target for treatment of brain edema? *Cerebrovasc Dis.* 2011;31:521-31.
8. Denker BM, Smith BL, Kuhajda FP, Agre P. Identification, purification, and partial characterization of a novel Mr 28,000 integral membrane protein from erythrocytes and renal tubules. *J Biol Chem.* 1988;263:15634-42.
9. Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, Agre P. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein. *Science.* 1992; 256, 385–387
10. Verkman, A.S. (2005) More than just water channels: unexpected cellular roles of aquaporins. *J. Cell Sci.* 2005;118, 3225–3232
11. Rojek A, Praetorius J, Frøkiaer J, Nielsen S, Fenton RA. A current view of the mammalian aquaglyceroporins. *Annu Rev Physiol.* 2008;70:301-27.
12. Badaut J, Brunet JF, Regli L. Aquaporins in the brain: from aqueduct to "multi-duct." *Metab Brain Dis* 2007; 22:251–263
13. Badaut J, Regli L. Distribution and possible roles of aquaporin 9 in the brain. *Neuroscience* 2004;129:969–979
14. Manley GT, Fujimura M, Ma T, et al. Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke. *Nat Med* 2000; 6:159–163
15. Papadopoulos MC, Verkman AS. Potential utility of aquaporin modulators for therapy of brain disorders. *Prog Brain Res* 2008; 170:589–601.
16. Pasantes-Morales H, Cruz-Rangel S. Brain volume regulation: osmolytes and aquaporin perspectives. *Neuroscience.* 2010 ;168:871-84.
17. Nag S, Manias JL, Stewart DJ. Pathology and new players in the pathogenesis of brain edema. *Acta Neuropathol* 2009; 118:197–217.
18. Aoki K, Uchihara T, Tsuchiya K, et al. Enhanced expression of aquaporin 4 in human brain with infarction. *Acta Neuropathol* 2003; 106:121–124.
19. Papadopoulos MC, Verkman AS. Aquaporin-4 and brain edema. *Pediatr Nephrol* 2007; 22:778–784.
20. Sorani MD, Zador Z, Hurowitz E, et al. Novel variants in human aquaporin-4 reduce cellular water permeability. *Hum Mol Genet* 2008; 17:2379–2389
21. Ding JY, Kreipke CW, Speirs SL, et al. Hypoxia-inducible factor-1 α signaling in aquaporin upregulation after traumatic brain injury. *Neurosci Lett* 2009; 453:68–72.
22. Tran N, Kim S, Vincent H, et al. Aquaporin-1-mediated cerebral edema following traumatic brain injury: effects of acidosis and corticosteroid administration. *J Neurosurg* 2010;112:1095-104.
23. Oliva AA Jr, Kang Y, Truettner JS, Sanchez-Molano J, Furones C, Yool AJ, Atkins CM. Fluid-percussion brain injury induces changes in aquaporin channel expression. *Neuroscience.* 2011;180:272-9.
24. Manley GT, Fujimura M, Ma T. et al. Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke. *Nat Med* 2000; 6:159–163
25. Papadopoulos MC, Manley GT, Krishna S, Verkman AS. Aquaporin-4 facilitates reabsorption of excess fluid in vasogenic brain edema. *FASEB J* 2004;18:1291–1293.
26. Donkin JJ, Vink R. Mechanisms of cerebral edema in traumatic brain injury: therapeutic developments. *Curr Opin Neurol.* 2010;23:293-9.
27. Bortner CD, Cidlowski JA. Apoptotic volume decrease and the incredible shrinking cell. *Cell Death Differ* 2002; 9:1307–1310.
28. Bortner CD, Cidlowski JA. The role of apoptotic volume decrease and ionic homeostasis in the activation and repression of apoptosis. *Pflugers Arch* 2004; 448:313–318.
29. Jessica Chen M, Sepramaniam S, Armugam A, et al. Water and ion channels: crucial in the initiation and progression of apoptosis in central nervous system? *Curr Neuropharmacol.* 2008;6:102-16.
30. Jablonski E, Webb A, Hughes FM Jr. Water movement during apoptosis: a role for aquaporins in the apoptotic volume decrease (AVD). *Adv Exp Med Biol* 2004;559:179–188.
31. Saadoun S, Papadopoulos MC, Hara-Chikuma M, Verkman AS. Impairment of angiogenesis and cell migration by targeted aquaporin-1 gene disruption. *Nature* 2005; 434, 786–792
32. Papadopoulos MC, Saadoun S, Verkman AS. Aquaporins and cell migration. *Pflugers Arch.* 2008 ;456:693-700
33. Saadoun S, Papadopoulos MC, Watanabe H, Yan D, Manley GT, Verkman AS. Involvement of aquaporin-4 in astroglial cell migration and glial scar formation. *J. Cell Sci.* 2005; 118, 5691–5698
34. Binder DK, Oshio K, Ma T, Verkman AS, Manley GT. Increased seizure threshold in mice lacking aquaporin-4 water channels. *Neuroreport* 2004;15, 259–262
35. Ding JH, Sha LL, Chang J, Zhou XQ, Fan Y, Hu G. Alterations of striatal neurotransmitter release in aquaporin-4 deficient mice: An in vivo microdialysis study. *Neurosci. Lett.* 2007; 422, 175–180
36. Nagelhus EA, Horio Y, Inanobe A. et al. Immunogold evidence suggests that coupling of K⁺ siphoning and water transport in rat retinal Muller cells is mediated by a coenrichment of Kir4.1 and AQP4 in specific membrane domains. *Glia* 1999; 26, 47–54.
37. Binder DK, Yao X, Zador Z, Sick TJ, Verkman AS, Manley GT. Increased seizure duration and slowed potassium kinetics in mice lacking aquaporin-4 water channels. *Glia.* 2006 15;53:631-6.
38. Demarin V, Zavoreo I, Kes VB, Simundić AM. *Clin Chem Lab Med.* 2011 May;49(5):773-8. Biomarkers in Alzheimer's disease.
39. Pérez E, Barrachina M, Rodríguez A, Torrejón-Escribano B, Boda M, Hernández I et al. Aquaporin expression in the cerebral cortex is increased at early stages of Alzheimer disease. *Brain Res.* 2007 12;1128:164-74.
40. House, M.J., St Pierre, T.G., Foster, J.K., Martins, R.N., Clarnette, R. Quantitative MR imaging R2 relaxometry in elderly participants reporting memory loss. *Am. J. Neuroradiol.*, 2006; 27, 430- 439
41. Misawa, T., Arima, K., Mizusawa, H., Satoh, J. (2008) Close association of water channel AQP1 with amyloid- deposition in Alzheimer disease brains. *Acta Neuropathol.*, 116, 247-260.
42. Foglio E, Rodella LF. Aquaporins and neurodegenerative diseases. *Curr Neuropharmacol.* 2010; 8:112-21.
43. Koppers, E., Gleiser, C., Brito, V., Wachter, B., Pauly, T., Hirt, B., Grissmer, S. AQP4 expression in striatal primary cultures is regulated by dopamine - implications for proliferation of astrocytes. *Eur.J. Neurosci.* 2008; 28, 2173-2182.

Sorumlu Yazar: Dr. Gülfer ÖZTÜRK
 Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
 Tıbbi Biyokimya Kliniği, Ankara - TÜRKİYE
 Tel: 0 (312) 596 20 00
 E-mail: gulfertabur@yahoo.com

IS Elementleri

IS Elements

İsmail CEYHAN

Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 25.04.2011

Kabul Tarihi: 13.09.2011

Özet

IS elementleri (katılma dizileri) bakterilerin hareketli genetik elementleridir. Küçük olmaları yanında genetik olarak kompakt (genellikle 700-2500bp) yapıdadırlar. Sadece transpozisyon aktivitesi için proteinlerin kodlarını içerirler. Bu proteinler IS elementinin hareketine izin veren enzimatik reaksiyonları katalize eder ve ayrıca transpozisyon aktivitesini uyaran veya engelleyen bir düzenleyici protein içerir. Bir IS elementinin kod bölgesi çoğunlukla ters tekrarlar arasında bulunur. Birçok IS elementi, tanı, genomik parmak izi ve/veya epidemiyolojik çalışmalarda çok yararlı olmaktadır. Örneğin, IS3 ailesi üyesi IS6110 *Mycobacterium tuberculosis*'in suş tiplendirmesi ve moleküler epidemiyolojide yaygın olarak kullanılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: IS elementleri, transpozonlar

Abstract

*Insertion sequences (IS/s) are mobile genetic elements in bacterial genomes. In addition to being small (generally around 700 to 2500 bp in length), IS elements sequences are genetically compact. They have only code for proteins to implicate in the transposition activity. These proteins are usually the transposase which catalyses the enzymatic reaction allowing the IS to move, and one regulatory protein which either stimulates or inhibits the transposition activity. The coding region in an insertion sequence is usually flanked by inverted repeats. Several IS elements are very useful for diagnosis, genomic fingerprinting and/or epidemiological studies. For example IS6110, a sequence of the IS3 family is widely for strain typing and molecular epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis*.*

Keywords: IS elements, transposons

Hareketli Genetik Elementler (HGE):

DNA esas itibarıyla stabil genetik bilgi taşıyan bir yapıya sahip olması ile bilinmektedir. Ancak gen ekspresyonu ve gen organizasyonu çalışmaları bir genin çoğu zaman di-

namik değişimler içinde olduğunu ortaya koymuştur. Bu güne kadar yapılan çalışmalar bu değişimlerin bir kısmının prokaryotik ve ökaryotik genomlarda bulunan genetik yapıda bazı elementler tarafından meydana getirilmek-

te olduğunu göstermiştir (1-7). Hareketli genetik elementler/transpozonlar (Transposable Genetic Elements-TGE, /Jumping Genes) olarak adlandırılan bu elementler plazmitten plazmite ya da kromozoma veya kromozomdan kromozoma veya diğer benzeri genetik materyaller arasında yatay geçiş sağlar(1).

HGE'lerin tipleri ve sınıflaması henüz tamamlanmamış olup farklı araştırmacıların farklı yaklaşımlarını içermektedir. Genel olarak bakıldığında i)transpozonlar ve ii)retrotranspozonlar olmak üzere iki tip HGE vardır (3,8,9):

1. Transpozonlar

- Transpozaz enzimi kodlarlar.

A) Basit transpozonlar (IS Elementleri)

- Yalnızca transpozisyonları için gerekli genetik yapıyı taşırlar.
- Genellikle yaklaşık 700-2500 bp (baz çifti) içerirler.
- Hemen hemen tamamı yalnızca bakterilerde (genom, plazmit, bakteriyofaj) bulunurlar.

B) Kompleks transpozonlar: Transpozisyon dışında diğer bazı işlevleri de olan bir veya birden daha fazla gen kodlayan bölge vardır.

- Genel olarak 2500-7000 bp içerirler
- Birbirinden bağımsız iki IS elementi arasında ekzogenus gen (toksin, rezistans genleri gibi) taşıyan kompleks yada birleşik yapıdadırlar.
- Ökaryotlarda çok farklı tiplerde oldukça yaygın olarak bulunurlar,

2. Retrotranspozonlar: Revers transtriptaz enzimi ile genetik bilgi RNA aracılığı ile gider.

- Bir RNA ara formu ile hareket ederler,
- Revers transkriptaz enzimini kodlarlar
- Esas itibariyle retrotranspozonlar yalnızca ökaryotlarda bulunurlar,
- Bakterilerde ilişkili retroelementler bulunabilir.

A) LTR (Directly repeated long terminal repeats) içeren retrotranspozonlar

- Promotor LTR içindedir.

B) Çoklu (Adenin) içeren, (poly-A-) retrotranspozonlar

- Promotor komşu DNA içindedir.

Bakteriyel IS Elementleri

Bakteriyel IS elementleri ilk olarak model genetik sistem-

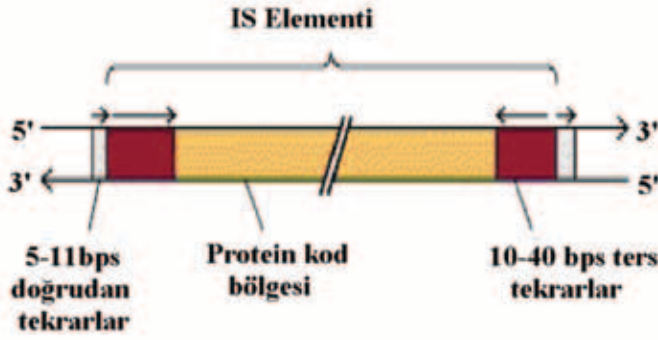
ler üzerinde çalışılırken fark edilmişlerdir (1,4,5). 1960'lı yıllarda ökaryotik canlılardaki benzerleri gibi bakterilerin de genetik değişimlere açık olabilecekleri öngörülmeğe başlanmıştı. Özellikle bakterilerdeki antibiyotik rezistansının varlığı ve aktarılması bu düşünceleri güçlendirmekteydi. 1975 yılında Hammersmith'deki Kraliyet Tıp Enstitüsünde çalışan Hedges ve Jacob isimli araştırmacılar ilk kez bakteriyel transpozonu tanımladılar. Bu transpozonun RP4 plazmid üzerindeki ampicillin direnç genini taşıdığını saptadılar. Bu nedenle buna TnA adı verilmiştir(4). Daha sonra yapılan çalışmalarda IS elementleriyle doğrudan veya yakından ilişkili kanamycin, kloramfenikol, tetrasiklin, trimetoprim ve streptomisine direnç oluşturan birçok genetik yapı saptanmıştır (5).

IS elementleri (Katılma Dizileri); transpozon aktiviteleri sayesinde farklı tiplerde delesyon, inversiyon, duplikasyon ve replikon fuzyon gibi genomik yeniden düzenlenmelere sebep olan bakteriyel hareketli elementlerdir. Bunlar *Escherichia coli* K-12 (E.coli K-12)'nin laktöz ve galaktöz operonları üzerindeki mutasyonlar ve λ bakteriyofaj genleri incelenmesi sırasında keşfedilmişlerdir. Bu mutasyonların büyük çoğunluğu elektron mikroskopik heterodubleks analizleri ile gösterilmiştir. Daha sonra yan genlerin transkripsiyonu ya IS içinde yer alan promotor bölgelerden veya katılma olaylarından kaynaklanan hibrit promotorlardan ya da IS bağımlı genetik değişimler sonucu olduğu bulunmuştur(1).

IS Elementlerinin büyük çoğunluğu oldukça farklı bakteri türlerinin genomik DNA'sı, bakteriyofaj ve plazmidlerinde tanımlanmış bulunmaktadır. Bazı sınıf IS elementleri fungi, bitkiler, siliat protozoonlar, omurgalı ve omurgasız metazoonlar gibi oldukça farklı canlı türlerinde de bulunabilmektedir(1).

Bir genomda birkaç adetten birkaç yüz adete kadar değişebilen sayılarda bulunabilirler. Uzunlukları genel olarak 800-2500 bp arasındadır. Sıklıkla ağır metal iyonları ve antibiyotik rezistans gibi doğal plazmid genleriyle ilişkilidirler(1).

IS elementleri transpozisyon için gerekli olan proteini (transpozaz enzimini) kodlayan bir veya daha fazla ORF (open reading frames) ve her iki ucunda 5-11 bp lik doğrudan tekrarlar (direct repeats) ve 10-40 bp'lik ters tekrarlar (inverted repeats, IRs) bulunur (Şekil.1), (2,10). Bu terminal tekrarlar transpozisyon sırasında transpozaz için tanıma bölgeleri olarak görev yaparlar. IS elementleri büyük çoğunlukla homolog rekombinasyon (homology-dependent recombination patway) dan bağımsız olarak hareket ederler(1).



Şekil 1: Tipik bir IS element yapısı

IS Elementlerinin Genel Özellikleri

İsımlendirme:

Birçok isimlendirme sistemleri üzerinde çalışmalar devam etmektedir. 1978 yılında Stanford Üniversitesinden Lederberg her bir IS elementine numara vererek isimlendirmeye başlamıştır. O yıllarda bilinen IS elementi sayısı oldukça sınırlı ve az olduğu için bu isimlendirme yeterli olmaktadır. Ancak bugün bulunan yüzlerce yeni IS elementinin tanımlanması bu sistemi yetersiz kılmıştır. İsimlendirmede kullanılan bir başka sistemde elementin kaynağı önem kazanmaktadır. Buna göre kaynak bir şekilde (isimlendirmede kısaltmalar şeklinde) ifade edilir. Örneğin ilk kez *Rhizobium meliloti*'den izole edilmiş olan IS elementi **ISRm1** olarak adlandırılmıştır. Bu sistemde birbiriyle çok yakın ilişkili izoform IS elementlerinin ayırımı zor olmakla beraber hem verici hemde spesifik kod numarası verilerek ayırım sağlanmaya çalışılmıştır. Bir diğer adlandırma sisteminde ise hiç bir belirgin kural veya kodlama metodu yoktur. O elementin bulunmasıyla birlikte verilen ve yerleşen isim olarak kullanılmaktadır (örneğin:Rsapha-9)(2).

Bakteriyel IS Elementleri:

IS elementleri bakteri genomlarının yaygın hareketli elementleridir. Yararlı mutasyonlara sebep oldukları bildirilmiş olmalarına rağmen sadece kendilerinin hareketlerini sağlayan enzimleri kodlamalarından dolayı *paraziter DNA yapıları* olarak değerlendirilmektedirler (9). Antibiyotik rezistans genleri ve bakteriler veya plazmidler arasında genetik madde aktarımıyla ilgili çalışmalar IS elementleri hakkında önemli bilgiler sağlamıştır. Bu çalışmalarda iki IS elementi arasında uzanan DNA molekülünün hareket yeteneği saptanmış ve bu yapı, karma veya bileşik transpozonlar olarak bildirilmiştir. IS elementlerinin bakteriler arasında son derece yaygın olması bakteriyel virülans ve patojenite üzerinde bir şekilde etkili olabileceği varsayımlarını güçlendirmiştir. Gerçektende son yıllarda bakteriyel patojenite ve virülans faktör veya mekanizmaları üzerinde

yapılmakta olan bir çok çalışma bu varsayımı doğrulamaya başlamıştır. Bu ilişki özellikle bazı hayvan patojenleri (*Bacillus*, *Bordetella*, *Brucella*, *Campylobacter*, *Escherichia*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Vibrio* ve *Yersinia*) ve bitki patojenlerinde (*Agrobacterium*, *Erwinia* ve *Pseudomonas*) ortaya konulmuş bulunmaktadır. Bunun yanında IS elementleri bioremediasyon çalışmalarında bazı fonksiyonel yapılardan da sorumlu tutulmuştur. Örneğin sitrat kullanımı ve bakterilerin katabolik ya da degradatif olmasından IS elementleri yakın ilişkili bulunmuştur (2).

IS elementleri bir çok bakteride kromozomal yeniden düzenlemelerine (rearrangement) ve plazmid integrasyonlarına sebep olurlar. Öyle IS elementleri vardır ki DNA içerisinde lokalize olduktan sonra RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) gibi epidemiyolojik amaçlar ve tür tiplmeleri için yeteri kadar sabit marker oluşturabilirler. Örneğin IS6110 *Mycobacterium tuberculosis* (10), IS1296 *Mycoplasma mycoides*, IS200 *Samonella* ve IS1004 *Vibrio cholerae* için tür tiplleme veya epidemiyolojik çalışmalarda kullanılmaktadır (2).

Organizasyon:

IS Elementleri küçük yapılarına rağmen genetik olarak kompakt bir yapıya sahiptirler. Esas itibarıyla HGE olmalarını sağlayan kodlama dışındaki başka bir fonksiyonu kodlamazlar (2,3,6).

Terminal Ters Tekrarlar (IR): Birkaç önemli örnek dışında (IS91, IS110 ve IS200/605), IS elementleri genel olarak 10-40 bp lik kısa terminal ters tekrar sekansları içerirler. IR'ler iki fonksiyonel bilgi alanına sahiptir. Birinci bilgi alanı (Domen/Domain-I) terminal bölgenin en uç kısmında yer alır ve elementin transfer reaksiyonuna hizmet eder. İkincisi ise Tpoz sekans spesifik tanıma ve bağlanma işini görür (2,6,7).

Doğrudan Tekrar dizileri (DTd): IS elementlerinin diğer genel bir özelliği de çoğu zaman hedef katılma bölgesinde kısa (≤ 14 bps) DTd oluşturmalarıdır (2,6). Bazen İki homolog IS elementi içinde veya arasında DTd oluşmaz. DTd'nın olmaması basitçe iki IS molekülü arasında homolog inter veya intra-moleküler rekombinasyona neden olur (2).

Traspozon Aktivitesinin Kontrolü:

Traspozon aktivitesi sonucu mutajenik gen düzenlenmeleri oluşacağı için konak hücre için zararlı olabilir. Tpoz promotörleri genellikle zayıf olup çoğunun bir kısım parçası Terminal IR ler içinde yer alır. Tpoz otoregulasyonu Tpoz bağlanmasıyla sağlanır (2).

Konakçı Faktörleri

Transpozisyon aktivitesi bir çok konakçı faktör tarafından etkilenir. Bu etkiler genellikle herbir element için spesifik veya karakteristik özellikler taşır. DNA şaperonları (histon benzeri proteinler), protein şaperonlar/proteazlar, SOS kontrol proteini (LexA), Dam DNA metilaz, *DNA supercoiling* (superkoil) yöneten proteinler gibi çok farklı faktörlerin de etkili olduğu düşünülmektedir(2).

DNA şaperonları: Bu tür proteinler transpozisyon için gerekli olabilecek 3 boyutlu yapıda önemli rol oynadıkları kabul edilmektedir. Bir çok element integrasyon konakçı faktörleri (İKF) için özel bağlanma bölgeleri taşır ve böylece T_{pa}z promotör aktivasyonu sağlarlar. Diğer bazı konakçı proteinlerinin aktiviteleri çok iyi anlaşılammış olmasına rağmen transpozisyon işlemini önemli ölçüde etkiledikleri düşünülmektedir. Acyl grubu taşıyan proteinler bazı çalışmalarda bağımsız olarak 3' ucunda bağlantıyı stimüle ettikleri ve kromozomal integrasyona yardımcı oldukları gösterilmiştir. Ayrıca bazı ClpX, ClpP ve Lon gibi protein ilişkili faktörlerin ve DNA polimeraz-I ve DNA-giraz gibi enzimlerin transpozisyonunda rol oynadıklarını gösterilmiştir. Bir diğer konakçı faktörü ise özellikle DNA hasarını sınırlandıran hücre sistemleri ile yakından ilişkili bulunmuştur. Bazı SOS sistemi içeren hücrelerde Transpozisyon belirgin biçimde inhibe olmaktadır (2).

Reaksiyon Mekanizmaları

Her bir elementin veya element grubunun kendine özgü, farklı ve karmaşık katılma reaksiyonu olmasıyla birlikte işlem bir kaç basamakta özetlenebilir:

- (i) rekombinaz bağlanma
- (ii) hedefin işlenmesi/kesilmesi
- (iii) transpozon transferi/son ürün oluşumu

Transpozisyon işleminin mekanizmaları büyük ölçüde bakteriyofaj-Mu ile yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur. Mu DNA transpozisyonunda bir seri yüksek nükleoprotein komplekslerine veya transpozomlara gerek duyar. Bu işlem multi-proteiner, multi-DNA bölgeleri, sirküle kooperatif-protein-protein kompleksleri ve süperkoile DNA üzerindeki Protein-DNA ilişkileri gibi son derece karmaşık koreografik (üç boyutlu yapılarıyla birlikte işleyiş ve işlem sırasıyla ilişkili) prosesleri içerir. Ayrıca işlem divalent metal iyonlarına gereksinim duyar(6).

T_{pa}z içerdiği su molekülü aracılığı ile nükleofilik reaksiyon sayesinde DNA'nın 3' ucunda fosfat üzerinden serbest 3'OH grubu oluşturur. Bu hidroksil grubu da yine nükleofilik atak ile hedef DNA'nın 5' fosfat grubuna trans-

esterifikasyon reaksiyonu sayesinde tek bir adımla bağlanır. Transpozisyon, bölgeye özel rekombinasyon reaksiyonlarında olduğu gibi enzim-substrat araformu veya dış enerji kaynaklarına gerek duymaz(2).

Reaksiyon sırasında transpozon fiziksel olarak verici DNA'dan tamamen ayrılarak ya da vericiden tamamen ayrılmadan ve replikasyon oluşmadan hedefe integre olur. Böylece reaksiyon doğrudan ve basit katılma olarak gerçekleşir. Ancak katılma transpozon vericiden ayrılmadan replikasyon oluşturarak hedefe katılır ise ko-integre oluşturur(2).

Transpozon immunité:

HGE'lerin en önemli özelliklerinden biri transpozon immunitedir. Eğer hedef molekül mevcut durumda bir element kopyasını taşıyor ise, ikinci kopya için affinite belirgin biçimde düşer. Bu durum esas itibariyle daha çok kompleks transpozonlar için (bakteriyofaj Mu, Tn7 ve Tn3 familyaları gibi) geçerlidir. Ancak bazı IS elementlerindeki (IS21) zayıf bir immünite dışında belirgin bir bulgu saptanamamıştır (2).

Hedef spesifitesi:

HGE'in katılacağı hedef bölgenin elementin katılma işlemi için oldukça özel bir önemi vardır. Her bir element için bölgenin sekans seçimi farklıdır. Sekans spesifik katılmanın derecesi ve şiddeti de elementten elemente değişir. Bazı elementler katılma için kesinlikle belli bir sekansı isterler. Örneğin IS91 elementi GAAC/CAAG hedef sekansına kesinlikle gerek duyar başka bir bölgeye asla katılamazlar. Bazı elementler ise belli hedef bölgeleri tercih ederler ancak katılma sınırlayıcı değildir. IS10, 5'-NGCTNAGCN-3' hepta nükleotidini ve IS231 5'-GGG(N)5CCC-3' nükleotid dizisini tercih eder, ancak sınırlayıcı değildir. Bazı IS elementleri ise AT ya da GC den zengin DNA segmentlerini seçerler. Bu durum esas olarak bölge seçimi şeklinde olur ve yerel DNA yapısı, süperkolin derecesi, DNA'nın katılma eğilimi, transkripsiyon/transkripsiyon kontrol mekanizmaları, protein aracılığı ile hedefleme gibi bir çok faktör tarafından kontrol edilir (2).

IS Element Familyaları

IS elementleri birçok bakterinin önemli genetik bileşenlerindedir. Prokaryotik hücrelerde şimdiye kadar 1500 den fazla is elementi bulunmuştur (11). Familyalar oluşturulurken şu ölçütler göz önüne alınmıştır(2):

- (i) Genetik organizasyon benzerliği,
- (ii) Transpozisyon reaksiyonlarına aracılık eden en-

zimlerin (rekombinaz/Tpaz) belirgin benzerliği,

(iii) Uç genetik yapılarındaki benzerlik,

(iv) Hedef bölgedeki nukleotid sekanslarının katılma öncesi ve sonrası durumu.

IS 1 Familyası

Bu familya üyeleri bugüne kadar yalnızca fakültatif anaerobik Gram negatif bakterilerde saptanmıştır. Başka bakterilerde henüz bulunamamıştır. IS1 ilk olarak izole ve karakterize edilen IS elementi olup 768 bp uzunluğunda en küçük IS elementlerinden biridir (2). Orijinal örnekler Enterobakteri familyası üyesi bakterilerin kromozom ve plazmidlerinde değişik kopya sayılarında bulunur. IS1 familya üyesi elementler diğer IS elementlerinden daha sık olarak değişik genlerde kendiliğinden katılma mutasyonlara neden olurlar (1). IS1 orijinal örnekleri çoklu ilaç direnci plasmid R100 ve F' lac- proB plazmidinden elde edilmiştir. Yaklaşık 30bp lik imperfekt (kusurlu) terminal IR'lerden (sağ ve sol, IRR ve IRL) oluşur. Birçok IS1 9 bp lik hedef duplikasyon oluşturur. Ancak 7,8,10,11 ve 14 bp'lik dublikasyonlar da oluşturduğu gözlenmiştir. IS1 hem basitçe katılma ve hem de ko-integrasyon gibi oldukça farklı genomik yeniden düzenlemeler yapabilmektedir. Ko-integrasyon olayı rekombinasyon kavşaklarında hedef dublikasyon oluşturur (1).

E.coli K-12 suşu kromozomunda farklı sayıda IS1 kopyası bulunur ve IS1 bağımlı delesyon, dublikasyon, transpozisyon ve kromozomal DNA segment amplifikasyonuna sebep olurlar. IS1 elementleri *E.coli* dışında *Shigella* türleri, *Salmonella typhimurium* ve diğer bazı ilişkili enterik bakterilerde de bulunur. Nukleotid dizileri *S. dysenteriae*'de bulunan genellikle *E.coli* K-12'dekilere benzerler(1).

IS3 Familyası:

IS4521 Enterotoksijenik *E.coli*'nin heat-stabil enterotoksin geni yanındadır. Üye IS'lerin genel olarak uzunlukları biri hariç (IS481 –1045bp) 1200 ile 1550 bp arasında değişir. Terminal IR'ler farklı sekanslara sahip olmakla birlikte 20-40 arasında olup belirgin biçimde benzerlikler gösterirler(1).

IS3, *E.coli* K-12 kromozomunda ve plazmid F de saptanmıştır. Aynı zamanda bir çok *Enterobacteriaceae* familyası bakterilerin kromozomlarında değişik kopya sayılarında bulunur. 1258 bp uzunluğundaki bu element 39 bp'lik kusurlu terminal IR'lere sahiptir ve insersiyon üzerinde 3 bp'lik hedef dublikasyon oluşturur. IS1'in tersine IS3 ko-integrasyon oluşturmaz. IS3, 317 aa'lik IS3 transpozaz enzimini oluşturacak orfA ve orfB adlı iki ORF bulunur. Bu iki bölgenin birleşme noktasında B' ismi verilen bir bö-

lüm üst üste çakışır ve AAAAG sekansında –1 okuma düzeni değişimi (frameshift, fs) suretiyle protein sentezlenir. IS1'in aksine orfA (99 aa) ve orfB (288 aa) düzen değişimi olmadan da ayrı ayrı protein oluşturabilir (2).

IS3 familyası OrfB sekanslarındaki farklı dizilimlere bağlı olarak birkaç alt guruba ayrılır. IS2 ve 407 birbirlerine daha yakın oldukları için alt grup, IS3, IS51, ve IS150 ise grup olarak ayrılmışlardır. Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerde bulunur. IS2 ve IS3'ün bazı kopyaları ve IS150 bir kopyasının *E.coli* K-12 kromozomundaki haritası çıkarılmıştır. IS2 ve IS3 hem Hfr suşlarının F plazmid integrasyonu ve hem de F-prime faktörlerin oluşturulmasından sorumludurlar. Belirli bir IS3 parçası bir kromozomal segmentin ters dönmesinden sorumludur. Hemen hemen tüm familya üyelerinin IS3 ile benzer olan iki ORF vardır. OrfA proteinleri aa sekansları az bir benzerlik göstermelerine rağmen orfB protein sekansları belirgin biçimde birbirleriyle ilişkili bulunmuştur. Sabit IS3 transpozaz domenlerinin büyük çoğunluğu ilginç bir şekilde retrovirus ve retrotranspozon integrazları ile paylaşılır(1).

IS3 familyası üyelerinden IS911; üzerinde yapılan çalışmalarda transpozon halkası oluşturup ve böylece transpoze olabildiği gösterilmiştir. Ancak mekanizmada bu halka gerçekten de oluşuyor olsa bile; intermoleküler transpozisyonun mekanizmasında Tpz aktivitesinin etkinliği için doğal bir ara ürün olup olmadığı belli değildir. Transpozon sirkülasyonunun en önemli sonucu belki de sirküler birleşmede çok güçlü bir promotör bölge üretilmesidir. Bu nedenle yeni transpozisyon otoregulasyon mekanizması önerilmiştir. Reaksiyon hem orfAB ve hem de orfA ya gerek duyar. Fakat süperkoile-verici DNA ya gerek duymaz (2).

IS4 Familyası

Bugüne kadar yaklaşık 70 adet familya üyesi saptanmıştır (12). IS4 18 bp IR'leri ile 1426 bp yapıya sahiptir ve hedef katılma bölgesinde 11-13 bp lik tekrarlar oluşturur. IS1 ve IS3'ün aksine IS4, 442 amino asitlik transpozazı kodlayan tek bir ORF içerir. Bu familyada farklı orijinli 40'dan fazla IS elementi vardır. Bu familya üyelerinde korunmuş sabit bir C1 bölgesi bulunur. Üstelik IS 231 transpozazının N-terminal içinde sabit N3 olarak bulunan bir bölgeyi paylaşırlar. Bu iki sabit bölgenin benzer özellikleri ve onların transpozaz içindeki relatif bulunma yerlerine göre **Grup A** ve **Grup B** tanımlanmıştır. Grup A IS elementleri non replikatif özelliğe, Grup B ise ko-integre özelliğe sahiptir. IS5 (grup B) *E.coli* K-12 genomunda diğerlerinden çok daha fazla sayıda bulunur(1).

IS10; Tetrasiklin geni taşıyan Tn10 transpozonunda bulu-

nur. Katılma; 6bp'lik simetrik konsensus bazları sayesinde 9 bp'lik hedef duplikasyon oluşturarak gerçekleşir. 22 bp'lik terminal IR'ler; dış (OE=IRL) ve iç (IE=IRR) ters terminal tekrarlar olarak ve Tn10 üzerindeki pozisyonlarına göre adlandırılmışlardır. Tpz tek ve uzun bir ORF den eksprese edilir(2).

IS50; Tn5 transpozonunun bir parçası üzerinde bulunup 1534 bp uzunluğundadır. IS10'dan organizasyon ve kontrol mekanizmaları bakımından ayrılır. Transpozisyon için en kritik bölgesi terminal 19 bp lik kısımdır. IS50 elementi iki proteini kodlar. Biri tek bir uzun ORF'den eksprese edilen Tpz (Tnp) diğeri ise N-terminal uçtan 55 amino asit eksiğiyle Tnp gibi ancak alternatif başlama kodonları kullanılarak eksprese edilen inhibitör proteindir. Her iki proteinin de farklı promotör bölgeleri bulunur (2).

IS231; IS231A ilk kez karma bir transpozonun bir parçası olarak *Bacillus thuringiensis* δ -endotoksin kristal protein geni içinde bulunmuştur. Transpozisyonun net mekanizması henüz kesin olarak anlaşılamamıştır. Non replikatif kes-yapış şeklinde olduğu tahmin edilmektedir (2).

IS5 Familyası

Oldukça heterojen bir gruptur. 47 üyesi ve 21 izoelementi vardır. Büyük çoğunluğu tek bir ORF içerir. 850 pb (IS869) ile 1643 bp (IS493) arasında değişen farklı uzunluklarda üyeleri vardır. Bu grubun en önemli özelliği Tpz benzerlikleridir. Üyelerin bazıları bir transpozonun parçası halindedirler. IS903 kanamisin rezistans geni taşıyan Tn903'ün, IS602 ise yine kanamisin rezistans geni taşıyan Tn602'nin bir parçası durumundadır. Benzer şekilde ISVa1/ISVa2 de demir transport genleri taşıyan bir transpozonun içinde yer alır (2).

Bazı üyeler terminallerinde GATC bölgeleri içerir. IS903'ün tüm alt gruplarında ve IS1031 ve IS427'nin alt gruplarının yaklaşık %50' sinde böyledir. Alt grup olan IS5 ve IS427 ile ISL2'in alt grubunun iki üyesinde (IS112 ve IS1373) bir hedef sekans (genellikle CTAG) tercih ederler. Katılmada, ya bu dört bp'in hepsi ya da merkezdeki TA duplike olur(2).

IS5: IS5'in önemi aslında ciddi mutasyonlara sebep olmasıdır. Transpozisyonu için gerekli ins5A kodlayan uzun bir ORF bölgesi ve ilişkili insB ve insC' yi kodlayan iki kısa ORF bölgesi içerir. Bu elementin transpozisyon mekanizması bilinmemektedir (2).

IS903: 18 bp'lik tipik terminal ters tekrarlar içeren bir organizasyona sahiptir. Transpozoz proteinin amino terminal ucunda lokalize bir bölge yoluyla bu uçlara bağlandığı gösterilmiştir. Transpozisyon mekanizması bilinmemekte-

dir. Birçok genetik araştırmadan elde sonuçlara göre sadece doğrudan katılma değil aynı zamanda duplikatif komşu delesyonlara neden olur (2).

IS6 Familyası

IS6 ismini Transpozon Tn6 dan alır. Birbiriyle aynı olan ve geçmişte farklı isimlendirilmiş IS elementlerini içerir. Birçok grup üyesi element bileşik transpozonların bir parçasında yer alır. Genel olarak 789 bp (IS257) ile 880 bp (IS6100) arasında uzunluğa sahiptirler. Terminal IR ler birbirlerine benzer. Hepsi kısa terminal IR'leri ile genellikle 8 bp'lik doğrudan hedef tekrarlar üretirler. Burada özellikle ilginç olan nokta nylon degradasyon geni içeren bir katabolik transpozon (*Arthrobacter* sp.de), *Pseudomonas aeruginosa* R1003 plasmidi ve *Xanthomonas campestris* transpozon Tn5393b'deki bir parça ile *Mycobacterium fortuitum*'dan izole edilen IS6100'ün identik olmasıdır(2).

IS6 familyası üyelerinde hedef plasmid, iki IS element kopyası içeren verici ile önce IS elementinin bir kopyası daha olduğu replikon füzyon meydana gelir. Daha sonra recA enziminin devreye girdiği ve herhangi iki IS elementi arasında homolog rekombinasyon gerçekleşir. Bunun sonucunda ya verici plasmid yeniden oluşur ve geriye tek kopya içeren transpozonu kaybetmiş hedef kalır ya da transpozon hedefe transfer edilir ve verici molekülünde tek kopya IS elementi kalır (2).

IS21 Familyası

15 üyesi bildirilmiş ancak 11'nin nükleotid sekansları tam olarak bulunmuştur. IS66'dan sonra en uzun IS elementleri (1950-2500bp) bu familya içindedir. *Bacillus spp.*, *Bacterioides spp.*, *Mycobacterium spp.*, *Pseudomonas spp.*, ve *Shigella spp.* gibi bakterilerde bulunmuştur (2).

IS30 familyası

Nükleotid sekansları saptanmış 15 üye ve 4 izoelement içerir. Bir adet ORF bölgesi içeren ve 1027 bp (IS1070) ile 1221 bp (IS30) arasında değişen uzunluklardadırlar. IS30 bu familyanı en iyi araştırılan üyesidir. Katılma spesifitesi vardır ve 2 bp lik DTd oluşturur. Diğer familya üyelerin çoğunda bulunmayan 5'-CA-3' nükleotid terminal element yapısına sahiptir(2).

IS66 Familyası

12 üyesi vardır. Yalnızca *Agrobacteria* ve *Rizobia* ile sınırlı en uzun nükleotid sekans içeren IS elementleri bu familyadadır. Birden fazla ORF bölgeleri içerirler. Familya üyeleri hakkında ayrıntılı çalışmalar henüz yapılmamıştır (2).

IS91 Familyası

8 üyesi vardır. İki farklı üyesi ise bir bileşik transpozonun parçası halindedir. IS92L ve R adı verilen bu elementlerin IS91 ile homoloji gösterdiği saptanmıştır. Familya üyelerinden 5'i *Escherichia*, 1'i de *Fusabacterium*, *Proteus* ve *Weeksella*' da bulunmuştur (2).

IS110 Familyası

1136 bp ile 1558 bp arasında değişen uzunlukta 20 üyesi ve 7 isoformu vardır. Ya çok kısa IR leri vardır ya da hiç yoktur. IS492 dışındakiler DTd oluşturmaz. Bu familya elementlerinde oldukça korunmuş tetrat motif reverstrans kriptaz enzimi ortaktır. Ancak bunun önemi anlaşılamamıştır. Transpozisyon mekanizması belli değildir. IS117 ve IS900 elementleri üzerinde yapılan çalışmalar site-spesifik rekombinasyon şeklinde olabileceğini düşündürmektedir. *Mycobacterium avium* kompleks suşları çalışmalarında kullanılan Is elementlerinden IS900, IS901, IS902 ve IS110 bu familya içindedir (2, 12).

IS200/IS605 Grubu: IS200 otonom bir element olarak tanımlanmış olmasına rağmen bir diğer ORF ile bileşik formdadır. Bu durum ilk kez *Helicobacter pylori*'den izole edilen IS605 de gözlenmiştir. Bu nedenle IS200 kompleks yapıdadır (2).

IS256 Familyası

33 üyesi ile birçok farklı bakteri grubunda bulunur. 1300-1500 bp uzunluğundadır ve terminal IR leri vardır. Ayrıca 8-9 DTd oluşturur. *Mycobacterium tuberculosis* kompleks deki IS1081 ile *Mycobacterium smegmatis* ve *Mycobacterium avium* da bulunan IS6120 bu familyadadır. Bu familyayı ilginç özelliği ökaryot homologlarının olmasıdır(2).

Mikobakteriyal IS Elementleri:

Mikobakteriyal IS Elementleri ilk kez spesifik proplar hibridizasyon çalışmalarında patojen mikobakteri aranırken fark edilmişlerdir. IS900; *Mycobacterium paratuberculosis* ve *Mycobacterium avium* kompleks (MAC) ile Crohn hastalığı arasındaki ilişkileri araştıran çalışmalarda bulunmuştur. Mikobakterilerdeki IS elementleri oldukça sınırlı sayıda konakçıya sahip ya da tür spesifik özelliktedir. IS6100 yalnızca *Mycobacterium fortuitum*'da IS6110 ise *Mycobacterium tuberculosis* kompleks de bulunur. Bu özellik onları epidemiyolojik çalışmalarda çok önemli marker yapmıştır(13).

MAC'ın epidemiyolojik çalışmalarında IS1110, IS1245 ve IS1311 kullanılmaktadır. Her üç IS elementi arasında % 85

benzerlik saptanmış ve epidemiyolojik çalışmalarda yeterli kadar farklılık oluşturabilecek veriler elde edilebilmiştir (14,15). IS900, 1451 bp uzunlukta terminal IR'leri olmayan ve DTd oluşturmayan özelliklere sahiptir. Sadece bir ORF bölgesi vardır. *Streptomyces* spp'den izole edilen IS110 ve IS116 elementleri ile benzerlik gösterir. ORF ürünü protein in-vitro çalışmalarda transpozisyon mekanizmalarının anlaşılmasında önemli ip uçları sağlamıştır. IS901 *Mycobacterium avium* suşlarında bulunmuştur. IS900'e benzer (13). MAC'de farklı sayılarda bulunabilen IS900 ve IS901 elementleri ile yapılan çalışmalarda ilginç sonuçlar elde edilmiştir. IS900 *Mycobacterium paratuberculosis*'de oldukça fazla sayıda kopya içerir (14). Yapılan bir çalışmada AIDS hastalarından elde edilen MAC suşlarının hiçbiri IS900 veya IS901 elementi içermediği ancak kuşlardan izole edilen suşların biri hariç hepsinin IS901 ve *Mycobacterium paratuberculosis* suşlarının %89'unun IS900 elementini içerdiği saptanmıştır (16). MAC ile enfekte 55 kuşun 48'inden IS901 izole edilmesinin virulansla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (13). Ayrıca son yıllarda IS901-IS902 ve IS1245 elementleri ile yapılan bazı moleküler tiplendirme çalışmalarında insan ve hayvanlarda enfeksiyon oluşturan suşların farklı olduğunu ortaya koymuştur (15,16).

IS6110 ve IS986 elementleri farklı suşlardan izole edilmiş identik yapılardır. Bu element farklı bölgelerden izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTB) suşlarında farklı kopya sayılarına sahiptir. Ayrıca epidemiyolojik olarak birbirine uzak bölgelerde genetik lokalizasyonu da farklı olarak bulunmuştur. Bazı Asya ülkelerinden izole edilen MTB suşları sadece 1 kopya içermesine karşın genel olarak kopya sayısı 5-20 civarındadır. Şimdiye kadar sadece Vietnam'dan izole edilen 4 MTB suşunda bu elementin hiç kopya sayısına bulunmadığı belirlenmiştir. Bu nedenlerle MTB'nin epidemiyolojik suş tiplendirmesinde ve tüberküloz hastalığının yayılması ile ilgili iyi bir marker olmuştur. IS6110 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) 1993 yılında altın standart olarak kabul edilmiştir. Ayrıca RFLP dışında Mixed Linker PCR (17), FLip-PCR (Fast Ligation Mediated-PCR) (18), LM-PCR (Ligation Mediated-PCR) (19) ve DRE-PCR (Double Repetitive Element-PCR) (20) gibi birçok farklı yöntem suş ayrımı ve tiplendirme amacıyla kullanılmaktadır.

IS1081 5-6 kopya sayısında bulunan MTB'nin bir diğer spesifik IS elementi olarak bulunmuştur. Farklı suşlardan elde edilen bu elementin genetik yerleşimi major polimorfizm göstermediği için epidemiyolojik çalışmalarda kullanılamamaktadır (13). IS987 elementi ise 1 kopya halinde *Mycobacterium bovis* BCG'den izole edilmiştir (21).

Ökaryotik IS Elementleri

Şimdiye kadar bulunan yüzlerce sayıdaki bakteriyel IS Elementi yanında oldukça faklı hayvan ve bitki türlerinde birçok benzer HGE'ler bulunmuştur. Bu elementlerin en iyi bilineni *Tc/mariner* familyasıdır ve yapı olarak bakteriyel IS elementlerine en yakın olanıdır. Bir diğeri *D.melanogaster* P elementidir. Bu elementin en önemli farkı T_{paz}'ın terminal Ir'den ziyade subterminal bir bölgeye bağlanmasıdır. Böyle bir subterminal bölgeye bağlanan başka iki ökaryot element grubu da *CACTA* familyası ile Ac familyasıdır. *CACTA* familyası 4 kb uzunluğa kadar ulaşan ve sadece bitkilerde bulunan bir gruptur. Ac familyası ise hem böceklerde hem de bitkilerde vardır (2).

Tc1/mariner süperfamilyası

Nematodlar, artropotlar, balıklar, mantarlar ve siliatların da dahil olduğu bir çok canlı grubunda bu tür elementlerin en yaygını bulunan HGE'si, Tc1/mariner transpozonlarıdır. IS630 familyasıyla benzerlik gösterir. Pogo elementlerle beraber bu gruba Tc1/mariner süperfamilyası adı verilmektedir. Bu familya ilk kez 1983 yılında David Hirsch ve Scot Emons tarafından *Caenorhabditis elegans* genomunda bulunmuştur. 1300-2400 bp uzunluğunda ve tek gen kod bölgesi vardır. Tc1/mariner familyasının primer sekansları (amino asit benzerliği familyalar arası %15) değişik olmasına rağmen büyük olasılıkla filojenik kökenleri aynıdır. Ayrıca transpozisyonun moleküler mekanizması benzerlik gösterir. Transpozaz ve IR ler bir seri moleküler olaydan sorumludurlar. Hareket esas itibariyle kes-yapış şeklinde olur (2,22).

P elementi

Drosophila dışında hiçbir başka canlı rastlanmamıştır. Bu özelliği büyük olasılıkla konakçı DNA faktörlerine bağlıdır. Tc1/marinere benzer şekilde kes-yapış tarzında hareket eder (2).

Kaynaklar

- Ohtsubo E, Sekine Y, Bacterial Insertion Sequences. Curr. Top. Microbiol. Immun. 1996. 204:1-26.
- Mahillon J, Chandler M, Insertion sequences. Microbiol. Mol. Biol. Reviews. American Society for Microbiology. 1998 (62) 3:725-774.
- Labrodor M and Corces VG. Transposable Element-Host Interactions: Regulation of Insertion and Excision. Annu.Rev. Genet. 1997;31:381-404.
- Hedges RW and Jacob AE. Transposition of ampicillin resistance from RP4 to other replicons Molecular and General Genetics Volume 132 (1), 31-40.

- Cornelis G. Bacterial Transposons. Web-site: www.science-connections.com/books/.../trends3/.../513-Bacterial.pdf erişim tarihi: 01.02.2011.
- Chaconas G, Lavoie BD and Watson MA. DNA transposition: Jumping gene machine, some assembly required. Curr. Biol 1996; (6) 7:817-820.
- Le Rouzic A and Capy P. Theoretical Approaches to the Dynamics of Transposable Elements in Genomes, Populations, and Species. In: Genome Dynamics and Stability. Ed: Lankenau, D.H., Springer Dordrecht Heidelberg London New York 2009 p.1-20.
- Kazazian Jr HH. Mobile elements and disease. Curr. Opin. Genet. Develop. 1998;8:343-350.
- Plague GR. Intergenic transposable elements are not randomly distributed in bacteria. Genome Biol Evol. 2010;2:584-90.
- Molecular Genetics, http://homepages.strath.ac.uk/~dfs97113/BB310/Lect1603.html Erişim tarihi: 23.04.2011
- Siguier P, Filée J and Chandler M., Insertion sequences in prokaryotic genomes. Current Opin. Microbiol. 2006; (9) 5:526-531.
- Palmenaer DD, Siguier P and Mahillon J. IS4 family goes genomic. BMC Evol Biol. 2008;23:8:18.
- McAdam RA, Guilhot C, Gicquel B. Transposition in *Mycobacteria*, In Bloom BR (ed.), Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1994;199-216
- Falkinham JO. Epidemiology of infection by nontuberculous *mycobacteria*, Clin. Microbiol. Review. 1996; (9); 2:177-215.
- Guerrero C, Bernasconi C, Burki D, Bodmer T. and Telenti A. The novel insertion element from *Mycobacterium avium*, IS1245, is a specific target for analysis of strain relatedness. J. Clin. Microbiol. 1995. 33:304-307.
- Ahrens P, Gies SB, Klausen J and Inglis NF. Two markers, IS901- IS902 and p40 identified by PCR and by using monoclonal antibodies in *Mycobacterium avium* strains. J. Clin. Microbiol. 1995. 33:1049-1053.
- Haas WH, Butler WR, Woodley CL, Crawford JT. Mixed-linker polymerase chain reaction: a new method for rapid fingerprinting of isolates of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. J Clin Microbiol 1993; 31: 1293-8.
- Reisig F, Kremer K, Amthor B, van Soolingen D, Haas WH. Fast ligation-mediated PCR, a fast and reliable method for IS6110-based typing of *Mycobacterium tuberculosis* complex. J Clin Microbiol 2005; 43: 5622
- Prod'hom G, Guilhot C, Gutierrez MC, Varnerot A, Gicquel B, Vincent V. Rapid discrimination of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains by ligation-mediated PCR fingerprint analysis. J Clin Microbiol 1997; 35: 3331-4.
- Friedman CR, Stoeckle MY, Johnson-WD J, Riley LW. Double-repetitive-element PCR method for subtyping *Mycobacterium tubercu-*

losis clinical isolates. J Clin Microbiol 1995; 33: 1383-4.

21. Small PM., and van Embden JDA. Molecular epidemiology of tuberculosis, In Bloom BR. (ed.), Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1994;569–582.

22. Plasterk RHA. Resident aliens the Tc1/mariner superfamily of transposable elements Trend. Genet. 1999; (15). 8:326-332

Sorumlu Yazar: Uz. Dr. İsmail CEYHAN
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı,
Cemal Gürsel Caddesi No:17-18
Sıhhiye, Ankara
E-mail: isceyhan@gmail.com



DETAY

PATOLOJİ VE SİTOLOJİ LABORATUVARI

**En üst düzeydeki model ekipmanımız
güveninize yakışmak için hazırdır.**

detaypatoloji@gmail.com

Lab: Mithatpaşa Cad. 68-9 Kocatepe / Kızılay- ANKARA
Tel / Faks: 418 64 28

Büro: Çankırı Cad. YIBA Çarş. 45-388 Ulus- ANKARA
Tel / Faks: 310 45 10

TÜRK KLİNİK LABORATUVAR DERGİSİ

YAZIM KURALLARI / YAZARLARIN DİKKATİNE



1. Türk Klinik Laboratuvar Dergisi DNT Ortadoğu Yayınevi'nin süreli yayını olarak üç ayda (Şubat, Mayıs, Ağustos ve Kasım) bir yayımlanır.
2. Derginin amacı Klinik Laboratuvar konularında yapılan deneysel, klinik ve epidemiyolojik çalışmalar, derlemeler, olgu sunumları, kısa raporlar ve editöre mektup türünden yazılar ile okuyucular arası bilgi alış verişini sağlamak ve böylece ülkemizin bilimsel gelişimine katkıda bulunmaktır. Bu kapsamda Mikrobiyoloji, Biyokimya, Toksikoloji, Patoloji, Radyoloji ve Nükleer Tıp olmak üzere 6 klinik laboratuvar dalı yer almaktadır.
3. Derginin dili Türkçe ve İngilizcedir. Olgu sunumları, deneysel, klinik ve epidemiyolojik çalışmalar için İngilizce başlık, İngilizce özet, İngilizce anahtar kelimelerin bulunması zorunludur. Kısa raporlar, editöre mektup ve derleme türü makaleler ile tamamı İngilizce hazırlanan yazılarda Türkçe özet olma zorunluluğu yoktur. Kısaltmalar uluslararası kabul edilen şekilde olmalı ve ilk kullanıldıkları yerde açık olarak yazılmalı ve parantez içinde kısaltılmış şekli gösterilmelidir.
4. Türkçe ve İngilizce özet en az 100 en çok 200 kelimedenden oluşmalıdır. Araştırma türü yazılarda özet, yapılandırılmış olmalı, Amaç, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Sonuç bölümlerini içermelidir. Olgu sunumu ve derlemelerin özetlerinin yapılandırılması gerekli değildir. Özet bölümünde kısaltmalar kullanılmamalı, kaynak gösterilmemeli ve tablo olmamalıdır. Özet bölümünden sonra en fazla 5 olmak üzere anahtar kelime verilmelidir. Anahtar kelimeler, Medical Subject Headings (MeSH) of Index Medicus' e göre hazırlanmalıdır.
5. Metinde mikroorganizmaların isimleri ilk geçtikleri yerde cins ismi büyük harf ile başlayarak tür ismi ise tamamı küçük harflerden olmak üzere tam olarak ve orjinal latince yazılmalı, daha sonraki kullanımlarda cins isminin ilk harfi büyük yazılarak nokta konulmalı ve tür ismi küçük harflerle tam bir şekilde yazılıp kısaltılmış olarak kullanılmalıdır (örneğin: Tuberküloz etkeni yazıda ilk geçtiği yerde Mycobacterium tuberculosis ikinci ve daha sonraki yerlerde ise M. tuberculosis olarak kısaltılmış halde yazılmalıdır). Mikroorganizmaların latince isimleri ya italik olarak yazılmalı veya italik olmalarını sağlamaya yönelik altları çizilerek yazılmalıdır. Yazıda mikroorganizmaların sadece cins adı belirtiliyorsa ya Türkçe'ye kazandırılmış şekli (örneğin mikobakteri, brusella gibi) ya da orijinal latincesi (Mycobacterium, Brucella gibi) yazılmalıdır. Türkçe yazıldığı durumda isimlerin italik olarak yazılması zorunlu değildir.
6. Antibiyotik ve ilaç isimleri dil bütünlüğünü sağlamak açısından aynı metin içerisinde ya okunduğu gibi veya orijinal İngilizce olarak italik ve cümle başında değilse ilk harfi küçük olarak yazılmalıdır. Örneğin: penisilin veya peniciline gibi.
7. Dergiye gelen yazılar, isimleri gizli tutularak konuyla ilgili üç danışma kurulu üyesine gönderilir. En az iki danışma kurulu üyesinin olumlu görüşünü alan yazılar yayımlanmaya hak kazanır.
8. Belirtilen yazım esaslarına uygun olmayan yazılar işleme konulmaz.
9. Türkçe olarak yazılan araştırma makaleleri aşağıda düzene uygun olarak yazılmalıdır;
 - a. Sayfa: Başlık (Türkçe), Yazarlar, Kurumu, Yazışma adresi.
 - b. Sayfa: Özet (Türkçe), Anahtar kelimeler, İngilizce başlık, İngilizce özet, İngilizce anahtar kelimeler.
 - c. Sayfa ve sonraki sayfalar sırasıyla Giriş, Materyal ve Metod, Sonuçlar, Tartışma ve Kaynaklar.
10. Olgu sunumu olarak yazılan makalelerde de yukarıdaki ilk 2 sayfa için geçerli düzene uyulmalı, üçüncü sayfadan itibaren yazının türüne uygun şekilde kaleme alınmalıdır.
11. Dergide yayınlanacak derleme türündeki yazılar gönderilmeden önce editörler kuruluna bilgi verilmeli ve onay alınmalıdır.
12. Tablo, şekil ve resimler (numaraları ve/veya alt yazıları ile birlikte) gönderilecek olan üç örnekten yalnızca birinde yazı içinde yer alması istenilen şekilde hazırlanmalı (eklenmeli, yapılandırılmalı vs.), diğer iki örnekte numara, başlık veya alt yazıları ile birlikte her biri Jpg formatında gönderilmedir. Yine bu son iki örnekte yazı danışma kurulu üyelerine isim saklı olarak gönderileceği için, yazar isimleri ve çalışmanın yapıldığı yer ile ilgili bilgiler bulunmamalıdır (boş bırakılmalı veya okunamayacak şekilde silinmelidir).
13. Kaynak numaraları metinde parantez içinde ve cümle sonunda belirtilmeli, metin sonunda eser içindeki geçiş sırasına göre numaralandırılmalıdır. Kaynakların yazılımı aşağıdaki örneklere uygun olmalıdır.

a)Kaynak bir dergi ise; Yazar(lar)ın Soyadı Adının başharf(ler)i, (6 ve daha az sayıda yazar için yazarların tümü, 6'nın üzerinde yazarı bulunan makaleler için ilk 3 yazar belirtilmeli Türkçe kaynaklar için "ve ark.", yabancı kaynaklar için "et al." ibaresi kullanılmalıdır). Makalenin başlığı. Derginin Index Medicus'a uygun kısaltılmış ismi Yıl; Cilt: ilk ve son sayfa numarası. Örnek: Saubolla MA, Keihn, TE, White MH, Rudinsky MF and Armstrong D. Mycobacterium haemophilum: Microbiology and expanding clinical and geographic spectra of disease in humans. Clin. Microbiol.Rev. 1996;9:435-447.

b)Kaynak bir kitap ise; Yazar(lar)ın Soyadı, adının başharf(ler)i. Kitabın adı, Kaçınıcı baskı olduğu, basım yeri, basımevi, basım yılı. Örnek: Murray PR, Rosenthal KS and Pfaller MA. Medical Microbiology. 5th Edition. London. The Mosby Company, Wolfe Publications Ltd. 2005.

c)Kaynak kitaptan bir bölüm ise; Bölüm yazar(lar)ının Soyadı Adının başharf(ler)i, Bölüm başlığı, In: Editör(ler)in soyadı adının başharf(ler)i (ed) veya (eds). Kitabın adı, Kaçınıcı baskı olduğu, Basım yeri. Yayınevi. Baskı yılı. Bölümün ilk ve son sayfa numarası. Örnek: Nolte FS and Metchock B. Mycobacterium. In: Murray PR, Baron EC, Pfaller MA, Tenover FC and Tenover RH (eds). Manual of Clinical Microbiology. Sixth edition, American Society for Microbiology Pres. 1995:400-437.

d)Bir derginin ilave eki ise : Yazar(lar)ın Soyadı, adının başharf(ler)i. (6 ve daha az sayıda yazar için yazarların tümü, 6'nın üzerinde yazarı bulunan makaleler için ilk 3 yazar belirtilmeli Türkçe kaynaklar için "ve ark.", Makalenin başlığı. Derginin Index Medicus'a uygun kısaltılmış ismi Yıl; Cilt: Parantez içinde ilave sayı numarası-kodu, ilk ve son sayfa numarası. Örnek: Weiss K. Vancomycin resistant enterococci: The value of infection control antibiotic control policy. Can J Infect Dis Med Microbiol 2006;17 (Suppl. B):9-12

e)Elektronik olarak yayımlanan dergi ise: Yazar(lar)ın Soyadı, adının başharf(ler)i. (6 ve daha az sayıda yazar için yazarların tümü, 6'nın üzerinde yazarı bulunan makaleler için ilk 3 yazar belirtilmeli. Türkçe kaynaklar için "ve ark.", Makalenin başlığı. Derginin Index Medicus'a uygun kısaltılmış ismi. Yıl; Cilt: Sayfa(ları) Elektronik baskı tarihi. Örnek: Zhou L and Pollard AJ. A fast and highly sensitive blood culture PCR method for clinical detection of Salmonella enterica serovar Typhi. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2010;9:14 Epub 2010 Apr 19

f)Web sitesi ise: Sitenin adı, Erişim tarihi: Erişim adresi . World Health Organization (WHO). Erişim tarihi: 11 Mayıs 2010: <http://www.who.int>

g)Yayımlanmamış veriler içerik ile kuvvetli bir bağlantısı varsa ve gerekli ise, ismi ve tarihi yazılabilir.

14.Olgu sunumlarının giriş ve tartışma kısımları kısa-öz olmalı, kaynak sayısı 15 den az olmalıdır.

15.Kısa raporlara özet yazılmamalı, en fazla 5 adet anahtar kelime, 10 kaynak, 1500 kelime, 2 tablo ve/veya şekil olmalı ve yazının hemen sonunda sırasıyla yazar isimleri, ünvanları ve yazışma adresleri bulunmalıdır.

16.Editöre mektup, dergide daha önce yayımlanmış yazılara bilimsel eleştiri yapmak, katkı sağlamak ya da orjinal bir çalışma olarak sunulmamış veya sunulamayacak bilgilerin paylaşılması amacıyla hazırlanmış en fazla 1000 kelimedenden oluşan, kısa-öz ve 6 dan az sayıda kaynağı olmalı özet içermemelidir.

17.Yazılar, yazının yayımlanmamış yada yayımlanmak üzere başka bir dergide üzere gönderilmemiş olduğunu bildiren, makaledeki isim sırasına uygun biçimde yazarlarca imzalanmış bir üst yazı ile gönderilmelidir.

18.Daha önce sunumu yapılmış bildiriler tarih ve yer belirtilmesi durumunda yayımlanabilir.

19.Yayımlanan yazıların bilimsel ve hukuki sorumluluğu yazarlarına aittir. Yazarlara telif ücreti ödenmemektedir.

20.Dergimizde yayımlanan yazıların yayın hakkı DNT Ortadoğu Yayıncılık A.Ş.'ne aittir.

21.Metinler yazıcı ile A4 kağıda, kağıdın sadece bir yüzüne ve çift aralıklı olarak yazılmalıdır. Üç nüsha olarak Flash disk veya CD ye kaydedilmeli aşağıdaki adrese veya e-mail: bilgi@ortadoguyayincilik.com gönderilmelidir. Başka bir elektronik aygıt örneğin 3.5" disket kullanılmamalıdır.

Adres: DNT Ortadoğu Yayıncılık A.Ş.

Bayındır 2 Sok. 63/12 Kocatepe/ANKARA

Tel: 0 (312) 418 40 77 & Fax: 0 (312) 418 40 67

www.ortadoguyayincilik.com

e-posta: bilgi@dentortadoguyayincilik.com

İletişim: Aslı ÇALIŞKAN

Tel: (0312) 418 40 77

e-posta: asliscaliskan_06@hotmail.com

TURKISH JOURNAL of CLINICAL LABORATORY INSTRUCTIONS TO THE AUTHORS



1. Turkish Journal of Clinical Laboratory is a periodical journal of the DNT ORTADOĞU YAYINCILIK A.S. and is published quarterly (February, May, August and November).
2. The goal of the Journal is to present and improve collective scientific knowledge dealing with Clinical laboratory via experimental, clinical and epidemiological studies, reviews, short communications, letters to the editor and case reports to the readers to improve our the scientific background. Turkish Journal of Clinical Laboratory contains 6 clinical laboratory fields including microbiology, biochemistry, toxicology, pathology and radiology and nuclear medicine.
3. The publishing languages is Turkish and English. Case reports, reviews, experimental, clinical and epidemiological studies shall have a title, an abstract and key words. Short communications and letters to the editor may not have abstract and key words. Anatomic terminology shall be based on Latin nomenclature. Abbreviations shall be internationally accepted and shall be defined accordingly in the text in parenthesis when first mentioned and used in the text.
4. Microorganism names shall be written with the full Latin names of the genus and the species when first mentioned in the text. The genus and species names shall be italicized. Later, the first letter of the genus should be capitalized while the species name is in lower case letters if the context makes the meaning clear (e.g. *Mycobacterium tuberculosis* M. tuberculosis).
5. All drugs and antibiotics should be written with their generic names.
6. All manuscripts should comply with "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" produced and updated by the International Committee of Medical Journals Editors (www.icmje.org).
7. Turkish Journal of Clinical Laboratory executes compliance with the Declaration of Helsinki Principles (<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>). All manuscripts concerning human topics have to contain a statement in the "Materials and Methods" section, indicating that the study was approved by the a authorized body (e.g. Institutional Review Board). There shall also be a formal declaration about informed consent obtained from research subjects, and it shall be placed in the "Materials and Methods" section. All manuscripts dealing with experimental animal subjects must contain a statement indicating the study was designed and performed according to "The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" (http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=5140) with the approval of the authorized board (e.g. National or Institutional Ethical Board), in the "Materials and Methods" section. If the editor ask for a copy of the approval document, it should be sent to him.
8. To be published the submitted manuscript(s) shall conform to the instructions promptly. The Editor, the Section's Editor or the Editorial Executive Board have the right to reject it(them), They may ask additional revisions or to revise the format of manuscripts according to the rules.
9. Initial evaluation of the submitted papers is performed by either the Editor or the Section's Editor and the Editorial Executive Board. The papers are sent to three selected reviewers as blinded-manuscripts. For the acceptance of the manuscripts should be get at least two reviewers' affirmative opinions. The Editor has the authority regarding reviewer selection. The reviewers are mainly selected from Advisory Board. The Editor may decide to send the manuscript to independent reviewers if he needs.
10. The dates of submission and acceptance of the manuscript are stated in the end of the manuscript when published in the journal.
11. The manuscripts shall be sent via e-mail bilgi@ortadoguyayincilik.com.tr or via regular post to the address of "Turkish Journal of Clinical Laboratory **Bayındır 2 Sok. 63/12 Kocatepe/ANKARA, TURKEY**" enclosed with three printed copies and a copy on a CD or flash disk. Other electronic materials such as 3,5" floppy disks are not acceptable.
12. The manuscript text shall be written in Arial font, 10 point-type, double-spaced with 2,5 cm margins on the left and right, with 3 cm bottom and upper sides. The article shall be prepared in IBM compatible programs (Microsoft Windows, at least, Microsoft Word 98). The pages shall be arranged in numerical order beginning from the first page, and the numbers shall be at the bottom right corner of each page. The main text body shall not contain any information regarding author(s)'s name or affiliation.
13. The author and all the co-authors shall sign a cover a letter declaring acceptance of full responsibility for the accuracy of the full contents of the paper. They shall also declare that the manuscript has not been previously published and/or not currently submitted to any other scientific journal or publication. The letter shall include contributions and responsibilities of each author, and whether there is a conflict of interest regarding manuscript. It shall also be declared, if there is no conflict of interest. In case of any financial contributions or the donations from any sponsors shall also be declared in this letter. The letter may be scanned and sent by mail (**bilgi@dentortadoguyayincilik.com**) or sent by fax to **(+903124184067)**.
14. Provided contribution that is not enough to be an author such as the data collection, statistical analysis, technical assistance, reviewers and writing should to be in the acknowledgement part.
15. The manuscript which has been presented previously as an abstract in any scientific activities such as congress or symposium, may be published if it has the date and the place of the meeting.
16. The title page shall contain the following: 1) the title of the article, which shall be concise but informative, 2) a short running title of no more than 50 characters (including spaces), 3) full names (first, middle and last names) of each author with academic degrees (highest degrees), 4) name of place(s), department(s) and institution(s) where the work was carried out, 5) disclaimer(s), if any, 6) the full postal and email address of the author responsible for correspondence regarding the manuscript, 7) the source(s) of support in the form of grants, equipment, drugs Authors should indicate on this page whether the study has been presented previously as an abstract in any scientific events such as congress or symposiums.
17. There should be at least two (but, not more than six) key words complying with the Index Medicus Medical Subject Headings (MeSH) (www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html).
18. Research Articles shall include; Title, structured abstract (Introduction, Materials and Methods, Results and Conclusion, limited to 350 words), and key words in English, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgement and References. Research articles shall be not more than 5000 words and 50 references.

- 19.** The Editor's approval is required before submitting a review article since reviews to be published are planned by the Editor.
- 20.** The reviews shall include; Title, unstructured abstract and key words and the main text section. Abstract must have maximum 250 words. The number of references shall not exceed 60.
- 21.** Case reports shall include; Title, abstract and key words. Introduction, Case, Discussion and References. Case reports should have a short introduction and discussion sections, and an unstructured abstract should be prepared as one paragraph. The number of references must to be maximum 15.
- 22.** Independent reports representing a remarkable contribution in the related field may be submitted as a short communication. The maximum length of a short communication is 1500 words. They shall include a title, an unstructured paragraph of abstract and 2-6 key words. The main text shall include a maximum of two figures and/or two tables. The number of references must to be maximum 15.
- 23.** The letters to the Editor may be submitted for addressing issues or exchanging views on topics arising from published articles or uncommitted subjects without original research interest. It shall be maximum 1000 words and including an abstract. The number of references must to be maximum 10.
- 24.** Figures and tables shall be numbered according to the sequence of referral within the text. Each item shall be cited in the text.
- 25.** Each table shall be prepared with double spacing on an one side of separate page. Tables shall have a brief title. Authors shall place explanatory matter in footnotes not in the heading. Explanations shall be made for all nonstandard abbreviations in footnotes. The following symbols may use for abbreviations, *, **, †, ‡, §, ††, ‡‡. Each table shall be cited in text.
- 26.** Figures shall be either photographed or professionally drawn, and these items shall be submitted via e-mail as high-quality digital images. If the manuscript has been sent via email as electronic file, figures shall be sent in a format that will produce high-quality image (for example, JPEG, iff, epd, pdf or GIF, not bitmap). Before submitting figures, authors shall control the images on a computer screen in order to ensure image-quality.
- 27.** X-ray films, pictures, photographs and other diagnostic images should be high-quality. Letters, numbers, and symbols on figures must be clear and consistent throughout, and large enough to remain legible when the figure is reduced for publication.
- 28. References ;**References shall be numbered consecutively in the order in where they are mentioned in the text. Identify references in the text, tables and legends at the end of the sentences in brackets. List all authors up to six authors. For more than six authors, list the first six authors followed by "et al". Journal names should be abbreviated as listed in "Index Medicus" or in "ULAKBIM/Turkish Medical Index".
- Journal articles;**The names of the first six authors, title of the article, abbreviated title of the journal, the year of publication, numbers of the volume and relevant page numbers of the article. Saubolla MA, Keihn, TE, White MH, Rudinsky MF and Arms-trong D. Mycobacterium haemophilum: Microbiology and expanding clinical and geographic spectra of disease in humans. Clin. Microbiol.Rev. 1996;9:435-447.
- Supplement;** The names of the authors, title of the article, abbreviated title of the journal, the year of publication, numbers of the volume, numbers of supplement in bracket and relevant page numbers of the article. Weiss K. Vancomycin resistant enterococci:The value of infection control antibiotic control policy Can J infect Dis Med Microbiol 2006;17 (Suppl. B):9-12
- Book;** The names of the authors, title of the book, numbers of the edition, the city, the publisher, the year of publication. Murray PR, Rosenthal KS and Pfaller MA. Medical Microbiology. London. 5th Edition. The Mosby Company, Wolfe Publications Ltd. 2005.
- Book chapter;** The names of the authors, title of the article, the editors, title of the book, numbers of the edition and the issue if existing, the city, the publisher, the year of publication and the relevant page numbers of the article. Nolte FS and Metchock B. Mycobacterium. In: Murray PR, Baron EC, Pfaller MA, Tenover FC and Tenover RH (eds). Manual of Clinical Microbiology. Sixth edition, American Society for Microbiology Pres. 1995:400-437.
- Congress presentation;** The names of the six authors, title of the presentation, the editors, title of the congress book, title of the congress, date of the congress, the city, the country, the publisher, the year, the relevant page numbers. Riley LW. A Novel Diagnostic test to differentiate latent TB infection and active disease European Society of Mycobacteriology 30th Annual Congress 2009 July 5-8; Porto, Portugal; Skyros-Porto; 2009. p. 32
- Journal published electronically;** The names of the first six authors, title of the article, abbreviated title of the journal, year of the publication, numbers of the volume, the relevant page numbers, electronically publication date. Zhou L and Pollard AJ. A fast and highly sensitive blood culture PCR method for clinical detection of Salmonella enterica serovar Typhi. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2010;9:14 Epub 2010 Apr 19
- Web site;** The name of the web site. Accessed date. Available from: Address of the web site. World Health Organization (WHO). Accessed date: 2010 May11. Available from: <http://www.who.int> Unpublished data: Unpublished data may be cited if they strongly needs as reference as "author(s), unpublished data and year"
- 29.** Scientific and all legal responsibilities pertaining to the paper belong to the authors. The ideas and recommendations mentioned in the articles and accuracy of the references are the responsibility of the authors. The owner of copyright of the accepted manuscript is the **DNT ORTADOGU YAYINCILIK A.S.** After acceptance of the manuscript, a copyright transfer form is sent to the author of correspondence by e-mail and required to be signed and returned by e-mail: (**bilgi@dentortadoguyayincilik.com**) or by fax (**+903124184067**).
- 30.** Authors will not have any payment for their the accepted manuscript(s) such as royalty payment.
- 31.** Accepted or not accepted manuscripts, pictures or CDs will not be sent back to the author.
- 32.** The issue including their article(s) will not be sent to the authors, if they are not subscribers of the journal,
- 33.** Not: In this instruction, the verbal form -"shall" implies that compliance with a requirement is mandatory for compliance with the instructions; -"should" implies that compliance with a requirement is strongly recommended but not mandatory for compliance with the instructions; -"may" implies that compliance with a requirement is permitted to be accomplished in a particular manner for compliance with the instructions.

Sağlıklı nesil, sağlıklı toplum...



İvedik Cad. No: 338/A-B Yenimahalle - ANKARA
Tel: 0 (312) 315 55 45 (pbx) Fax: 0 (312) 315 33 35
www.buyukortadogutip.com.tr - yonetim@buyukortadogutip.com.tr