

# Türk

# Klinik Laboratuvar

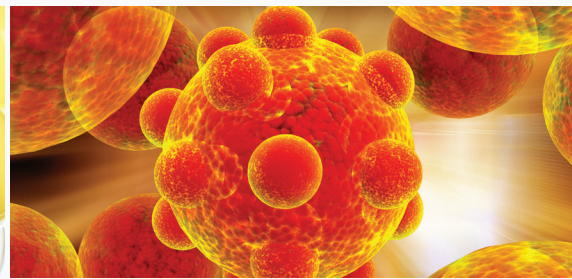
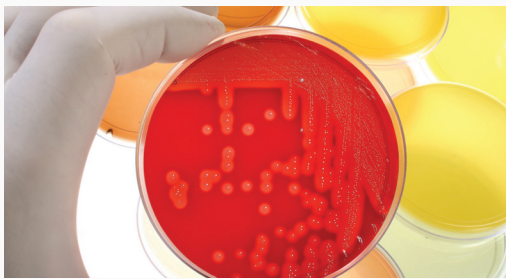
TURKISH JOURNAL of CLINICAL LABORATORY Dergisi



3 Ayda Bir Yayınlanan Bilimsel Tıp Dergisi

ISSN: 1309-7237

Mayıs 2011 Cilt:2 Sayı:2





# DEREN LABORATUVARLARI

<b>Merkez :</b> Büklüm Sokak No: 53 (Giriş katı) Kavaklıdere / ANKARA Tel: 0.312 466 33 55 (pbx) Fax: 0.312 466 33 59	<b>Şube :</b> Cinnah Caddesi No: 35/10 Çankaya / ANKARA Tel: 0.312 438 43 55 (pbx) Fax: 0.312 438 43 58
---	---

[www.derenlab.com](http://www.derenlab.com)



# TÜRK KLİNİK LABORATUVAR DERGİSİ

TURKISH JOURNAL of CLINICAL LABORATORY

**TÜRK KLİNİK LABORATUVAR DERGİSİ - *TURKISH JOURNAL of CLINICAL LABORATORY***

MAYIS 2011 CİLT:2 SAYI:2 ÜÇ AYDA BİR YAYINLANIR/ MAY 2011 VOLUME :2 ISSUE: 2  
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 KİRAZ 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



# 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](http://www.dntortadoguyayincilik.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. İlker DURAK

Dr. Rıza DURMAZ

Dr. Salim DEMİRCİ

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

Dr. Doğan YÜCEL

# İÇİNDEKİLER

## INDEX

### BAŞ EDITÖRDEN

#### Orjinal Araştırma (Original Article)

##### Çocuk Ve Yenidoğan Servislerinde Yatan Hastaların Boğaz Kültürlerinin Değerlendirilmesi .....53

*Evaluation Of Throat Cultures From Paediatrics And Newborn Clinics*

Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU, Aytakin ÇIKMAN, Bilge GÜLTEPE, Görkem YAMAN, Oğuz TUNCER, Mustafa BERKTAŞ

##### Antinükleer Antikor Pozitif Hastalarda Immunoblotting (IB) .....59 Test Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi

*Retrospective Evaluation Of Immunoblotting (IB) Test Results In Anti-Nuclear Antibody Positive Patients*

Hüseyin GÜDÜLCÜOĞLU, Görkem YAMAN, Aytakin ÇIKMAN, Ulaş ÇALIŞIR, Mustafa BERKTAŞ

##### Akciğer Tüberkülozlu Hastalar ve Sağlıklı Bireylerde Serum Selenyum, .....63 Bakır ve Çinko Düzeyleri

*Serum Selenium, Copper, Zinc levels In Patients With Pulmonary Tuberculosis and Healthy Subjects*

Salih CESUR, Osman AYKUT, İsmail CEYHAN, Yalçın EROĞLU, Nevin TACİ HOCA, Ebru TEPEÇALI

##### A Grubu β-Hemolitik Streptokoklarda Makrolid Direncinin Fenotiplerinin Araştırılması .....66

*Phenotypes of Macrolide Resistance in Group A Beta-Haemolytic Streptococci Strains*

Mustafa GÜNEY, Hanefi Cem GÜL, Ahmet Celal BAŞUSTAOĞLU

##### *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında Metallobeta-laktamaz Enziminin .....69 Taranmasında İki Farklı Yöntemin (Kombine Disk ve E-Test) Karşılaştırılması

*The Comparison Of Two Different Methods (Combined Disk And E-Test) In The Screening Of Metallobeta-lactamase Enzyme In Strains Of Pseudomonas Aeruginosa*

Salih CESUR, Hasan IRMAK, Selcan ARSLAN ÖZEL, Zevcen Esra BÜYÜKBAŞARAN, Eda YILDIZ, Sami KINIKLI, Esra KARAKOÇ, Ali Pekcan DEMİRÖZ

#### Derleme (Review)

##### Candida: An Update Of Distinctive Mycological Properties .....74

*Kandida: Belirgin Mikolojik Özellikler Üzerine Bir Güncelleme*

Ilknur DAĞ, Yasemin OZ, Nuri KIRAZ

##### Asymptomatic Tracheal Fistula to Adjacent Soft Tissue Secondary to Blunt Trauma .....83

*Künt Travmaya Sekonder Trakeadan Komşu Yumuşak Dokuya Uzanan Asemptomatik Fistül*

Nurdan ÇAY, Karabekir ERCAN, Meral ARİFOĞLU, Muharrem TOLA

#### Vaka Sunumu (Case Report)

##### Retrofarengeal Ve Retrosternal Uzanım Gösteren Dev Multinodüler Guatr .....85

*Huge Multinodular Goiter With Retropharyngeal And Retrosternal Extension*

Bigge SAYIN, Nilgün YILDIRIM, Perihan SOYDİNÇ, Erdoğan AKTAŞ, Doğan DEDE

#### Editöre Mektup

##### Spontaneous Hematoma Of The Rectus Sheath Associated With .....89 Low Molecular Weight Heparin

*Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin Kullanımı İle İlişkili Spontan Rektus Kılıfı Hematomu*

Nurdan ÇAY, Muharrem TOLA



Prof. Dr. Mustafa ALTINBAŞ  
Baş Editör

Dışkapı Yıldırım Beyazıt  
Eğitim Araştırma Hastanesi  
Medikal Onkoloji Klinik Şefi

## BAŞ EDITÖRDEN

Bu yılın ikinci Türk Klinik Laboratuvar Dergisi sayısıyla karşınızdayız. Bize gösterdiğiniz teveccüh, artan destek yolumuza şevkle devam etmemizdeki en önemli gücümüzdür. Yazılarıyla, Danışmanlık hizmetleriyle, reklam destekleri ile bize omuz veren herkese müteşekkirimiz.

Bu sayımızda çok kıymetli araştırma makaleleri, uzman görüşünü yansıtan derlemeler, nadir görülen bir guatr vakası ve bir editöre mektup yer almaktadır. Makaleler hakkında okuyucu görüş ve değerlendirmeleri bizim için çok değerlidir.

Kliniklerinizde ve Bölgelerinizde yaptığınız ve yapacağınız araştırmaları bizimle Dergimizde paylaşırsanız seviniriz. Dergimizde yer verilmesini istediğiniz Derleme konularını da bize iletebilirsiniz. İlginç bulduğunuz ve nadir görülen vakalarınızı Dergimize bekliyoruz. Türk Klinik Laboratuvar Dergimizde yer almış olan yazılar hakkında Editöre Mektup yazabilirsiniz. Konun önemini vurgulayan, araştırma sonuçlarını destekleyip pekiştiren görüşlerin yanında farklı sonuç ve görüşleri de bizimle paylaşabilirsiniz. Veya yanlış anlamaya yol açan değerlendirmeleri vurgulayabilirsiniz. Bilimsel zeminde kalmak kaydıyla her türlü görüş bizim için makbuldür, saygıdeğerdir.

Özellikle laboratuvar çalışmalarının önündeki engelleri ve zorlukları yine bize yazabilirsiniz ve bunu bilimsel ve idari kamuoyu ile seve seve paylaşırız. Somut önerilerinizi lütfen bize yazınız ! Engellerin ortadan kalkması için birlikte uğraş vermekte yarar vardır diye düşünüyoruz.

**Türk Klinik Laboratuvar Dergisi Yıl 1 Sayı 1** Nüshasında yer alan yazıda yazar isimleri sehven yanlış sıralanmıştır. “**Micro CRP Sistemlerinin Nefelometrik Yöntemle Karşılaştırılması**” makalesinde olması gereken doğru yazar sıralaması “**Mustafa Berктаş, Mehmet Parlak\*, Görkem Yaman, Aytekin Çıkman, Hüseyin Güdücüoğlu, Metin Yüce**” şeklindedir. (\*) işaretinin açıklaması “**Okuma sınırları dışında kaldığı için örnekler istatistik değerlendirme dışı bırakılmıştır**” yer almalıydı. Düzeltir, yanlışlıktan dolayı özür dileriz.

*Müteakip sayıda buluşmak dileği ile esen kalınız !*

**Prof. Dr. Mustafa ALTINBAŞ**

# BD PHOENIX™

Tam Otomatik İdentifikasyon Antibiyogram Sistemi

## Seçim özgürlüğü

- Karbapenamaz direncini %100 hassasiyetle saptayabilen tek sistem



- EUCAST için valide edilmiş paneller



Helping all people  
live healthy lives



## Çocuk ve Yenidoğan Servislerinde Yatan Hastaların Boğaz Kültürlerinin Değerlendirilmesi

### Evaluation Of Throat Cultures From Paediatrics and Newborn Clinics

Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU<sup>1</sup>, Aytekin ÇIKMAN<sup>1</sup>, Bilge GÜLTEPE<sup>1</sup>, Görkem YAMAN<sup>2</sup>, Oğuz TUNCER<sup>3</sup>, Mustafa BERKTAŞ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tıbbi Mikrobiyoloji, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Van- TÜRKİYE

<sup>2</sup>Tıbbi Mikrobiyoloji, Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul- TÜRKİYE

<sup>3</sup>Çocuk Hastalıkları, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Van- TÜRKİYE

### Özet

**Amaç:** Çalışmada; hastanemiz çocuk ve yenidoğan servislerinde yatan hastaların boğaz kültürlerinde enfeksiyon etkeni olabilecek mikroorganizmaların izolasyonu ve identifikasyonu ile antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Bu servislerde yatan 58 hasta çalışmaya alındı. Bu hastaların boğaz sürüntü örneklerinde A Grubu Beta Hemolitik Streptokok (AGBHS), Candida spp ve gram negatif patojen mikroorganizmaların varlığı araştırıldı. İzole edilen mikroorganizmaların tanımlanmasında konvansiyonel yöntemler kullanıldı. Tanımlama ve antibiyotik/antifungal duyarlılık testlerinde Phoenix (Becton Dickinson, USA) otomatize mikrobiyoloji sistemi ve API 20C AUX (bioMérieux, Fransa) ticari kitlerinden yararlandı.

**Bulgular:** Hastaların 29 (%50)'unda gram negatif mikroorganizmalar, 22 (%38)'sinde Candida spp ve 6 (%10)'sında AGBHS tespit edildi. Gram negatiflerin dağılımı; 12 *Pseudomonas aeruginosa*, 10 *Klebsiella* spp, 2 *Acinetobacter* spp, 2 *Stenotrophomonas maltophilia*, 2 *Serratia marcescens* ve 1 *Escherichia coli* olarak belirlendi. Gram negatif bakterilerden en sık üreyen *P.aeruginosa*, piperasilin-tazobaktam'a ve sefepim'e %100 dirençli iken amikasine %17, siprofloksasine ise %25 oranında dirençli bulundu. *Klebsiella* suşlarının 9'u *K.pneumoniae*, biri ise *K.oxytoca* olarak belirlendi. *K.pneumoniae* suşlarında ampisiline %100 direnç saptanırken, imipenem, meropenem, amikasin, siprofloksasin, levofloksasin ve sefoksitine karşı direnç görülmedi. Kandida suşlarının 16'sı *C.albicans*, 2'si *C.parapsilosis*, 2'si *C.kefyr*, 1'i *C.glabrata* ve 1'i *C.tropicalis* olarak tespit edildi.

**Sonuç:** Boğaz florasına kolonize olan patojenler, endojen kaynaklı enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Bu hastalara uygulanacak antibiyotik tedavisinde olası patojenlerin de göz önüne alınmasıyla düzenlenecek uygun tedavi rejimleri, hastaların mortalite ve morbiditelerinde sağlayacağı azalmanın yanı sıra gelişebilecek direnci de önleyecektir.

**Anahtar Kelimeler:** Boğaz kültürü; çocuk ve yenidoğan.

### Abstract

**Aim:** The purpose of this study was to isolate, identify and detect the antimicrobial susceptibilities of microorganisms expected to be infectious agents from throat cultures of patients hospitalized in our paediatrics and newborn clinics.

**Material and Method:** 58 patients hospitalized in this department were studied. Presence of A group beta hemolytic streptococcus (AGBHS) *Candida* spp and Gram negative pathogen microorganisms were investigated. Identification and antimicrobial susceptibility testing of isolated microorganisms were performed with conventional methods, Phoenix automated microbiology system (Becton Dickinson, USA) and API 20C AUX (bioMérieux, France).

**Results:** Gram negative microorganisms, *Candida* spp and AGBHS were detected in 29 (50%), 22 (38%) and 6 (10%) of the patients respectively. Gram negatives were distributed as; 12 *Pseudomonas aeruginosa*, 10 *Klebsiella* spp, 2 *Acinetobacter* spp, 2 *Stenotrophomonas maltophilia*, 2 *Serratia marcescens* and 1 *Escherichia coli*. The most frequent Gram negative bacteria *P.aeruginosa* was detected as 100% resistant to Piperacillin-tazobactam and Cefepime, 17% resistant to Amikacin and 25% resistant to Ciprofloxacin. Isolated *Klebsiella* strains were identified as 9 *K.pneumoniae* and 1 *K.oxytoca*. The resistance of *K.pneumoniae* strains for ampicilin was 100% whereas no resistance was detected for imipenem, meropenem, amikacin, ciprofloxacin, levofloxacin and ceftazidime. *Candida* strains were identified as 16 *C.albicans*, 2 *C.parapsilosis*, 2 *C.kefyr*, 1 *C.glabrata* and 1 *C.tropicalis*.

**Conclusion:** Throat flora colonizing pathogens, can lead to infections of endogenous origin Appropriate antibiotic treatment regimes coordinated to cover these possible pathogens will reduce morbidity and mortality as well as prevention of antibiotic resistance development.

**Keywords:** Throat culture; paediatric and newborn.

## Giriş

İnsan vücudunun yüzeyinde, başta bakteriler olmak üzere çeşitli mikroorganizmalar kolonize olarak bulunmaktadır. Çoğu bakteri sadece geçici koloni oluştururken, uygun yüzey bulanların bazıları ise daha kalıcı kolonizasyon sağlamayı başarmaktadır. Birçok bölge çeşitli mikroorganizma ile karışık kolonize halde bulunmakta olup bunlardan biri de boğaz florasıdır (1).

Orofaringeal flora normal kişilerin çoğunda başlıca viridans streptokoklardan oluşmaktadır. Viridans streptokok kolonizasyonunda anne sütü alımı ve normal spontan yol ile doğum en önemli faktörlerdir (2). Bu bakteriler boğaz florasında kolonize olduğunda, burada bulunacak diğer bakterilerin kolonizasyonunu azaltmaktadırlar.

Boğaz florasında bir enfeksiyon olmaksızın üst solunum yollarında yerleşen mikroorganizmalardan başlıcaları; aerobik bakterilerden beta hemolitik streptokoklar, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenza*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, anaerobik bakterilerden *Fusobacterium* spp. ve *Actinomyces israelii*, mayalardan *Candida albicans*, virüslerden ise Adenovirüs ve Herpes simplex gelmektedir. Şayet kişi hastalığı nedeniyle hastaneye başvurursa bu yerli flora bakteriyel açıdan gram pozitiflere (en önemlisi *Streptococcus* spp) ve gram negatiflere (*Enterobacteriaceae* ve *Pseudomonas* spp) dönebilmektedir (3).

Gram negatif bakterilerin önemlilerinden biri olan *Pseu-*

*domonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*), özellikle yoğun bakım ünitelerinde nozokomiyal pnömonilerden en sık izole edilen patojendir (4). Bir diğer Gram negatif bakteri olan, *Klebsiella pneumoniae* (*K.pneumoniae*) hem toplum kaynaklı hemde hastane kaynaklı lobar pnömoniler başta olmak üzere üriner enfeksiyonlar, yara enfeksiyonları ve bakteriyemilere neden olmaktadır. Bunlar yenidoğan ünitelerinde plasmidle ilişkili çoklu dirence sahip hastane enfeksiyonlarına yol açabilmektedir (5,6). Boğaz florasında bakterilerden başka önemli patojen olarak mayalar bulunmaktadır. Bu mayalardan kandidaların büyük bir çoğunluğu endojen kaynaklı olup ağız ve gastrointestinal kanal florasında uygun koşullarda enfeksiyon etkeni haline geçip yenidoğan ve yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) epidemilere yol açmaktadır (7,8). Kandidemi, yoğun bakım hastaları, bağışıklık sistemi baskılanmış hematolojik malignitesi olan ve yenidoğan dönemindeki hastalar başta olmak üzere geniş bir topluluk için önemli bir risk oluşturur (7).

Bu çalışmada; hastanemiz çocuk ve yenidoğan servislerinde yatan hastaların boğaz kültürlerinde enfeksiyon etkeni olabilecek mikroorganizmaların izolasyonu ve identifikasyonu ile antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlandı.

## Gereç ve Yöntem

Çeşitli nedenlerle hastanemiz çocuk ve yenidoğan servislerinde yatan 58 hasta çalışma kapsamına alındı. Tüm hastalardan boğaz sürüntü örnekleri alınarak, A grubu beta hemolitik Streptokok (AGBHS), *Candida* spp ve Gram(-) pa-

tojen mikroorganizmaların varlığı araştırıldı. Alınan boğaz sürüntü örnekleri Stuart taşıma besiyeri (COPAN, Italia) ile bir saat içinde laboratuara ulaştırıldı. Gelen örnekler %5 koyun kanlı Colombia agar, Mac Conkey agar ve gentamisin + sikloheksimit + kloramfenikol içeren antibiyotikli Saboroud dextroz agar (SDA) besiyerlerine ekildi (1). AGBHS varlığının araştırılması için %5 koyun kanlı Colombia agara tek koloni ekimin yanısıra, oluşabilecek hemolizin daha iyi görülebilmesi için özenin birkaç kez besiyeri içine tekrar batırılmasıyla ekilmiş besiyerleri 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi (1). Üreme saptanmayanlarda inkübasyon 48 saate kadar uzatıldı. Oluşan küçük, kabarık, grimsi renkteki hafif bulanık ve etrafında geniş bir beta hemoliz bulunan kolonilerden alınan saf kültürler katalaz etkinlikleri, basitrasine ve sulfametoksazole duyarlılıkları ve lateks aglutinasyon testi ile tanımlanarak (1).

Kandida varlığının belirlenmesi için alınan örnekler SDA besiyerine ekildi ve besiyerleri 48 saat 37°C'de inkübe edildi. Gram boyama sonucunda maya mantarı görünümünde olanlara daha sonra hızlı identifikasyon sağlayan API 20C AUX (bioMérieux, Fransa) ticari kitleri ile tür ayrımı yapılarak amfoterisin B, flusitozin, flukonazol, itraconazol ve vorikonazole karşı antifungal duyarlılıkları in-

celendi. 37°C'de, 18-24 saat inkübe edilen ve Mac Conkey agar besiyerinde üreme olan Gram (-) mikroorganizmaların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testleri için, BD Phoenix otomatize mikrobiyoloji sistemi (Becton Dickinson, USA) ile bu sisteme ait Gram negatif paneller kullanıldı.

## Bulgular

Çalışmaya alınan 58 hastanın 39'unda patojen olabilecek mikroorganizmalardan (AGBHS, Candida spp. ve Gram negatif basil) en az biri üretildi. Kültür sonucunda hastaların 29 (%50)'unda Gram (-) mikroorganizmalar, 22 (%38)'sinde Candida spp ve 6 (%10)'sında AGBHS tespit edildi.

Bu Gram (-) mikroorganizmalardan, *P.aeruginosa* 12 (%41), *Klebsiella* spp. 10 (%34), *Acinetobacter* spp 2 (%7), *Stenotrophomonas maltophilia* (*S.maltophilia*) 2 (%7), *Serratia marcescens* (*S.marcescens*) 2 (%7) ve *Escherichia coli* (*E.coli*) 1 (%4) olarak tespit edildi.

On iki hastanın boğaz kültüründe üretilen *P.aeruginosa*'ya karşı en yüksek direnç piperasilin-tazobaktam ve sefepime karşı (%100) görüldü (Tablo 1).

**Tablo 1:** *P. aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere dirençli suş sayısı ve oranları (%).

	PİP-T	CZM	FEP	İPM	MER	ATM	CN	AK	CİP	LEV
<b><i>P.aeruginosa</i> (n:12)</b>	12(100)	6(50)	12(100)	8(67)	8(67)	11(92)	2(17)	2(17)	3(25)	7(68)

PİP;Piperasilin-tazobaktam, CZM; Seftazidim, FEP; sefepim, İPM; İmipenem, MER; Meropenem, ATM; Aztreonam, CN; Gentamisin, AK; Amikasin, CİP;Siprofloksasin, LEV; Levofloksasin.

n: Çalışılan suş sayısı

İzole edilen 10 *Klebsiella* suşunun 9'u *K.pneumoniae*, biri ise *Klebsiella oxytoca* olarak saptandı. Saptanan *K.pneumoniae* suşlarının 4'ü ESBL pozitif olarak belirlendi. *K.pneumoniae* suşlarında ampisiline %100 direnç

saptanırken, imipenem, meropenem, amikasin, siprofloksasin, levofloksasin ve sefoksitine karşı direnç görülmedi. *K.pneumoniae* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları tablo 2'de verildi.

**Tablo 2:** *K.pneumoniae* suşlarının antibiyotiklere dirençli suş sayısı ve oranları (%).

	AMP	AMC	PİP	PİP-T	CZ	FEP	CTX	FOX	İPM	MER	CN	AK	CİP	LEV	SXT
<b><i>Klebsiella</i> spp (n:10)</b>	10(100)	6(60)	8(80)	5(50)	6(60)	5(50)	5(50)	0	0	0	3(30)	0	0	0	7(70)

AMP; Ampisilin, AMC; Amoksilin-Klavunik Asit, PİP;Piperasilin, PİP;Piperasilin-tazobaktam, CZ;Sefazolin, FEP;sefepim, CTX;Sefotaksim, FOX;Sefoksitin, İPM; İmipenem, MER; Meropenem, CN;Gentamisin, AK; Amikasin, CİP; Siprofloksasin, LEV;Levofloksasin, SXT;Trimetoprim-Sulfametoksazol. n: Çalışılan suş sayısı

Acinetobacter spp'nin her ikisinde aztreonama dirençli bulunurken amikasin, siprofloksasin, gentamisin, imipenem ve piperasilin-tazobaktama duyarlı olarak belirlendi. *S.maltophilia* suşları trimetoprim-sulfametoksazol, seftazidim, levofloksasin ve kloramfenikole duyarlıyken, *S.marcescens* suşları ise gentamisin ve piperasiline duyarlı bulundu. Çalışmada izole edilen *E.coli* suşunun ESBL üretmediği belirlendi.

İzole edilen 22 kandida suşunun tür düzeyinde dağılımı; *C.albicans* 16 (%72), *C.parapsilosis* 2 (%9), *C.kefyr* 2 (%9), *C.glabrata* 1(%5) ve *C.tropicalis* 1(%5) olarak bulundu.

## Tartışma

Çocuk ve yenidoğan servislerinde gelişen nozokomiyal enfeksiyonların yaşamsal risk oluşturması, etkenlerin serviste yatan diğer bebeklere hızla yayılması ve eradikasyonunun çok zor olması, bu konuda epidemiyolojik çalışmaların yapılmasını zorunlu hale gerektirmektedir. Bunun da temelini mikroorganizmaların kolonizasyon durumunun, yayılımının ve antibiyotik direnç profillerinin periyodik şekilde izlenmesi oluşturmaktadır.

Doğuma kadar endojen florası olmayan yenidoğan, yaşamın başlangıcından hemen sonra mikroorganizmalarla karşılaşmaya başlar. Sağlıklı yenidoğanlar doğumdan sonraki birkaç gün içinde normal florayı kazanırlar. Viridans streptokoklar farenkste kolonize olan başlıca Gram pozitif mikroorganizmalardandır ve bunlar hastanede yatan hastalarda özellikle orogastrik sonda ve endotrakeal tüp gibi kaygan yüzeylerde glikokaliks tabakası oluşmaktadır. Bunun yanında özellikle bu tabakada yerleşen ve antibiyotiklerden etkilenmeyen Gram negatif çomaklar, orofarengeal bölgedeki dirençli kolonizasyonlardan sorumludur (9,10).

AGBHS'ların farinksdeki kolonizasyonları aktif enfeksiyona neden olabileceği gibi, asemptomatik taşıyıcılıkla da sonuçlanabilir. Bu mikroorganizmanın virulans faktörleri invaziv hastalık oluşmasında önemlidir fakat taşıyıcılığa neden olan özellikler tam olarak açıklanamamıştır (11). Bazı çalışmalara göre sağlıklı çocuklarda boğazda AGBHS taşıyıcılık oranları %15-20 arasında değişmektedir (12,13). Erişkinlerde ise oranlar daha düşük olup, ülkemizden bildirilen bir çalışmada %9 olarak bulunmuştur (14). Bizim çalışmamızdaki çocukların boğaz florasında AGBHS taşıyıcılık oranı (%10) olarak tespit edilmiştir. Bu oran yapılan diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

*Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) gibi YBÜ'lerde sıklığı giderek artan ve çok ilaca dirençli Gram negatif bakterilerin tedavilerinde önemli sorunlarla karşılaşmaktadır (5). Dirençli suşların ortaya çıkmasında, tek bir antibiyotik kullanımının sürekli ve yoğun olarak kullanımı önemli rol oy-

namaktadır (15). *P.aeruginosa*, hem endojen flora kaynaklı, hem de eksojen bulaş sonucu çok çeşitli enfeksiyonlara ya da çapraz bulaş sonucu salgınlara neden olabilmektedir (5). *P.aeruginosa*, hastane enfeksiyonlarından %10-25 oranında sorumlu en sık üçüncü patojen olarak yer almaktadır (16).

*Klebsiella pneumoniae* (*K.pneumoniae*) yoğun bakım hastalarının boğaz ve ciltlerinde kolonize olarak kateterle ilişkili bakteriyemi ya da pnömoni etkeni olabilirler. Bu bakterinin kolonizasyonunda ve enfeksiyon gelişiminde; önceden kullanılan antibiyotikler, hastanede yatış süresi ve invazif girişimler risk faktörleri olarak sayılmaktadır (17). Ülkemizde çok merkezli yapılan bir çalışmada YBÜ'lerde Gram negatif bakteriler arasında % 30 oranı ile ilk sırayı *P.aeruginosa* almış, bunu % 25 ile *Klebsiella* spp. izlemiştir (18). Bizim çalışmamızda da 58 hastanın 12'sinde (%20) *P.aeruginosa*, 10'unda (%17) *K.pneumonia* üretilmiş bu da yukarıdaki diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

Acinetobacter spp. hastane personeli cildinden en sık izole edilen ve pek çok çevre yüzeyinde bulunabilen bir patojendir (18). Acinetobacter spp., hastane enfeksiyonlarının % 3-20'sinden sorumludur (19). Bu çalışmada da Acinetobacter spp.'nin gram negatif üreyen bakteriler arasındaki oranı % 7 olarak bulunmuş olup, Balcı ve ark.'nın (19) yapmış oldukları çalışmayla uyumludur. Tüm dünyada olduğu gibi, Türkiye'de de son yıllarda *A.baumannii* suşları sıklıkla ve çoğul dirençli olarak izole edilmeye başlanmıştır. Antimikrobiyal dirençteki bu hızlı artış *A.baumannii* enfeksiyonu şüphesi ile yatan hastalarda klinisyenlerin ampirik tedavi seçeneklerini giderek azaltmaktadır (20). Bu çalışmada izole edilen Acinetobacter suşlarının, tedavide sıklıkla kullanılan amikasin, siprofloksasin, gentamisin, imipenem ve piperasilin- tazobaktama duyarlı olduğu görülmüştür.

*Stenotrophomonas maltophilia* (*S.maltophilia*) günümüzde gittikçe daha sık izole edilen, fırsatçı bir nozokomiyal enfeksiyon etkenidir (21). Doğada ve hastane ortamında yaygın olarak bulunan bu mikroorganizma erişkinlerin orofarinks ve balgamlarından sıklıkla izole edilebilir. Hastanelerde ve sıklıkla YBÜ'lerinde gittikçe daha sık oranda izole edilen *S.maltophilia*, hastane enfeksiyonu etkeni olarak %4-8 oranında bildirilmektedir (22). *S. maltophilia* birçok antibiyotiğe, çeşitli mekanizmalarla dirençli olup, yol açtığı enfeksiyonların tedavisi zor, morbidite ve mortalitesi yüksektir (21). İzole ettiğimiz her iki *S.maltophilia* suşu trimetoprim-sulfametoksazol, seftazidim, levofloksasin ve kloramfenikole duyarlı olarak bulunmuştur.

*Serratia marcescens* (*S.marcescens*)'de yenidoğan YBÜ nozokomiyal enfeksiyonların başta gelen nedenlerinden-

dir (23). Bu bakteri bakteriyemi, alt solunum yolları, cerrahi yaralar ve deri ve yumuşak dokularda infeksiyonlara yol açmakta ve nozokomiyal infeksiyonların %2'sinden sorumlu tutulmaktadır. *S.marcescens* kaynaklı nosokomiyal infeksiyonlarda mortalite hızı %26 oranında bildirilmektedir (24). Çalışmamızda %7 olarak saptanması örneklerin alındığı hasta grubunun özellikle etkenin sık olarak saptandığı YBÜ alınması ile ilişkili olduğu söylenebilir.

Yapılan çalışmalar, YBÜ takip edilen hastaların çeşitli vücut bölgelerinden üretilen mikroorganizmaların %90'nını kandida türleri oluşturmaktadır (25). Bizim çalışmamızda ise alınan örneklerin sadece boğaz florasına ait olması nedeniyle bu oran %38 olarak belirlenmiştir. Kandida türleri ile oluşan infeksiyonlarda çok sayıda risk faktörünün rol aldığı bilinmektedir (26). YBÜ kandida enfeksiyonu için uzun süreli yatış, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, intravasküler kateter varlığı ve parenteral beslenme önemli risk faktörleridir (27). Bu çalışmaya alınan hastalar uzun süre YBÜ'nde yatan ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanan hastalardan oluşmaktadır. Bu nedenle bu hastalar kandida kolonizasyonuna maruz kalmışlardır.

Günümüzde YBÜ'nde gelişen infeksiyonların önemli bir kısmından Gram (-) bakterilerin sorumlu olduğu bilinmektedir. Sık karşılaşılan infeksiyon etkenleri ve direnç özellikleri bölgeler, hastaneler, hatta aynı hastane içindeki farklı YBÜ'lerde bile farklılık göstermektedir (5). Özellikle pediatri yoğun bakım ve yenidoğan servislerinde komplike hastaların sıklığı ve damar yolu sorunları, ilaç yarı ömürlerinin erişkinlerden daha kısa olması nedeniyle daha sık ilaç uygulamaları, ajite ve küçük bebeklerin damar yolu girişimlerinde erişkinlere göre daha fazla sorun yaşanması, daha sık hemşire bakım ve manuplasyon gereksinimleri hastane infeksiyonları riskini arttırıcı nedenlerden sayılabilir (28).

Çocuk ve yenidoğan servislerinde yatan bebeklerin enfeksiyonlara karşı savunmasız konumları hızla ampirik antibiyotik tedavisine başlanmasını zorunlu kıldığı için yoğun bakım florasını bilmek uygun ampirik antibiyotik protokolünü belirlemede faydalıdır. Çocuk veya YBÜ'lerde yatan hastaların boğazlarında izole edilen mikroorganizmaların gerçek yada olası patojen olmasına bakılmaksızın çalışılan antimikrobiyal duyarlılık testleri, enfeksiyon gelişmesi durumunda tedavi için bir ön bilgi sağlamaktadır.

## Kaynaklar

1. Bilgehan H, Klinik Mikrobiyolojik Tanı, 4. Basım, İzmir, Fakülteler Kitabevi, Barış Yayınları, 2004;329-33.
2. Uehara Y, Kikuchi K, Nakamura T et al. Inhibition of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization of oral cavities in newborns by viridans group *Streptococci*. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1399-407.

3. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P. *Color Atlas and Textbook of diagnostic Mikrobiology*. 6.Ed. Lippincott Williams and Wilkins p: 70-1.
4. Eyigör M, Telli M, Tiryaki Y, Okulu Y, Aydın N. Yatan hastalardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 2009; 23(3): 101-5.
5. Arman D. Yoğun bakımda Gram negatif bakteri sorunu, *ANKEM Derg* 2009; 23(Ek 2):148-56.
6. Ustaçelebi Ş. (ed): *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji Kitabı*, Güneş Kitabevi, Ankara, 509-11, 1999.
7. Güneş İ, Aydın A, Kalkancı A, Kuştimur S. Yoğun bakım ünitelerinde *Candida* kolonizasyonunun değerlendirilmesinde kolonizasyon indeksinin kullanılması. *T Klin J Microbiol-Infec* 2003; 2:12-6.
8. Ustaçelebi Ş. (ed): *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji Kitabı*, Güneş Kitabevi, Ankara, 1081-5, 1999.
9. Long SS, Swenson RM. Development of anaerobic fecal flora in healthy newborn infants. *J Pediatr* 1977; 91: 298-301.
10. Cordero L, Sananes M, Ayers LW. Failure of systemic antibiotics to eradicate Gram-negative bacilli from the airway of mechanically ventilated very low-birth-weight infants. *Am J Infect Cont* 2000; 28: 286-90.
11. Toprak D, Demirdal T, Aşçı Z, Orhan S, Çetinkaya Z, Demirtürk N. Sağlıklı okul çocuklarında nazofarinksde A Grubu Beta Hemolitik *Streptokok* taşıyıcılığı. *Düzce Tıp Fak Derg* 2008; 2:26-9.
12. Pichichero ME, Marcossi SM, Murphy ML, Hoeger W, Gren JL, Sorrento A. Incidence of streptococcal carriers in private pediatric practice. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 1999; 153: 624-8.
13. Bisno AL, Stevens DL. *Streptococcus pyogenes*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): *Principles and Practice of Infectious Disease*. 6th ed. Philadelphia. Churchill Livingstone. pp. 2362-79, 2005.
14. Adiloğlu AK, Can R, Kaya S, Arıdoğan BC. Isparta ili Kesme köyünde 15-60 yaş arası gönüllülerde boğaz sürüntü örneklerinin incelenmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*. 2002; 32: 193-6.
15. Albayrak GT, Hastane enfeksiyonu etkeni olan *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinde çift disk sinerji testi ve kombine çift disk sinerji ile metallo-betalaktamaz varlığının araştırılması. *Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul* (2008).
16. Çelik İ, Cihangiroğlu M, Akbulut A. Hastane kökenli *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında indüklenebilir Beta-Laktamaz Sıklığı, *Fırat Tıp Derg* 2007; 12(4): 284-6.
17. Lim SM, Webb SA: Nosocomial bacterial infections in Intensive Care Units I: Organisms and mechanisms of antibiotic resistance, *Anaesthesia* 2005; 60(9): 887-902.
18. Özdemir M, Erayman İ, Türk Dağı H, Baykan M, Baysal B. Hastane enfeksiyonu etkeni *Pseudomonas* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 2009; 23(3): 122-6.

19. Balcı M, Bitirgen M, Kandemir B, Türk Arıbaş M, Erayman İ. Nozokomiyal *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılığı, ANKEM Derg 2010; 24(1): 28-33.
20. Gazi H, Sürücüoğlu S, Kurutepe S, İnmez E, Dinç G. Yoğun bakım ünitesi ve diğer ünitelerde yatan hastalardan izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında in-vitro antibiyotik direnci, ANKEM Derg 2005; 19(3): 115-118.
21. Dülger D, Berktaş M. *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarının klinik önemi. Van Tıp Derg. 2007; 14(3): 90-5.
22. Zer Y, Karaoğlan İ, Çevik S, Erdem M. *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının irdelenmesi. Klimik Derg 2009; 22(1): 21-4.
23. Miranda-NovalesMG, Gordillo-Perez MG, Solorzano-Santos F, Leanos-Miranda B, Villasis-Keever MA, Villegas-Silva R. Case-control study of an outbreak of *S. marcescens* in a neonatal intensive care unit. Rev Invest Clin 1998; 50: 13-8.
24. Bozkurt H, Güdücüoğlu H, Bayram Y, Gülmez S, Kutluay N, Bozkurt E, Berktaş M, Klinik örneklerden üretilen *Serratia* cinsi bakterilerin çeşitli infeksiyonlardaki rolü ve antimikrobiyallere duyarlılıkları, Van Tıp Derg 2005; 12 (3):182-8.
25. Sandven P, Giercksky KE, the NORGAS Group, and the Norwegian yeast study group. Yeast colonization in surgical patients with intra-abdominal perforations. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2001; 20; 475-81.
26. Voss A, le Noble JLML, Verduyn Lunel FM, Foudraine NA, Meis JFGM. Candidemia in intensive care unit patients: risk factors for mortality. Infection 1997; 25; 8-11.
27. Bassetti M, Mikulska M, Viscoli C. Bench-to-bedside review: Therapeutic management of invasive candidiasis in the intensive care unit. Crit Care. 2010 1;14(6):244.
28. Hacımustafaoğlu M. Pediatriye hastane kaynaklı infeksiyonlardan korunma. ANKEM Derg 2004; 18 (Ek 2):148-53.

Sorumlu Yazar: Dr. Bilge GÜLTEPE  
Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi,  
Tıbbi Mikrobiyoloji AD, 65100 Van-TÜRKİYE  
Tel: 0 432 216 47 11- 6002  
E-mail: bilgesumbul@hotmail.com

## Antinükleer Antikor Pozitif Hastalarda İmmunoblotting (IB) Test Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi

### Retrospective Evaluation of Immunoblotting (IB) Test Results In Anti-Nuclear Antibody Positive Patients

Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU<sup>1</sup>, Görkem YAMAN<sup>2</sup>, Aytekin ÇIKMAN<sup>1</sup>, Ulaş ÇALIŞIR<sup>1</sup>, Mustafa BERKTAŞ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van- TÜRKİYE

<sup>2</sup>Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul- TÜRKİYE

### Özet

Bu çalışmada; iki yıllık süreçte indirekt immunfloresans (IIF) testi ile antinükleer antikor (ANA)'u pozitif saptanan hastaların, immunoblotting (IB) testi ile elde edilen antikor sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlandı. Haziran 2008-2010 tarihleri arasında 1287 hastadan, IIF ile +1≤ pozitif olan serumlar IB testi açısından değerlendirmeye alındı. IIF ANA profile 3 ve IB ANA profile 3 Euroline (Euroimmun-Germany) testleri 1/100 oranında dilüe edilerek çalışıldı. IB striplerinde saptanan antikorlar kantitatif (+, +, +, +) olarak değerlendirildi. Toplam 1287 hastanın 367'si IIF testi ile ANA pozitif (%29) olarak saptandı. Bu hastaların 155'i (%42) IB testi ile pozitif olarak bulundu. IB ile 342 antikor belirlendi. En fazla ds-DNA antijenine karşı 71 hastada (%21) antikor saptandı. IIF testi ile ANA pozitif 212 hastada (%58) IB testi ile herhangi bir antikor tespit edilmedi. IIF ile ANA varlığının araştırılması iyi bir tarama testi olarak görülmektedir. IB testi ise pahalı olması, deneyimli personel gereksinimi gibi dezavantajlara sahip olmasına karşın, bu alanda kullanılan diğer yöntemlere göre daha hassas olması nedeniyle, doğrulama amacı ile kullanılması uygun olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Antinükleer antikor, indirekt immunfloresans, immunoblotting.

### Abstract

The aim of this study was to retrospectively evaluate the antibody results obtained with immunoblotting (IB) method of patients positive for antinuclear antibody (ANA) with indirect immunofluorescence (IIF) test over a two year period. From a total of 1287 patients, IIF results with +1≤ were included for IB testing between June 2008-2010. IIF ANA profile 3 and IB ANA profile 3 Euroline (Euroimmun-Germany) tests were studied in 1/100 dilutions. The antibodies detected in IB strips were evaluated quantitatively (+, +, +, +). From a total of 1287 patients 367 (29%) were detected positive for ANA. 155 (42%) of these patients were also positive with IB test covering 342 antibodies. The most frequent antibody was against ds-DNA in 71 (21%) patients. Any antibodies could not be detected with IB test in 212 (58%) ANA positive patients. Detection of ANA presence with IIF is determined to be a useful screening test. Although having disadvantages of being expensive and requirement of a qualified personel, IB test is more sensitive than equivalents therefore appropriate for confirmation.

**Keywords:** Anti-nuclear antibody, indirect immunofluorescence, immunoblotting.

## Giriş

Antinükleer antikorlar (ANA) 1940'lardaki keşfinden beri bir dizi sistemik otoimmün hastalığın sınıflandırılması ve tanımlanmasında önemli bir rol oynamaktadırlar(1). Bu otoantikorlar hücre zarı, hücre reseptörleri, plazma proteinleri, sitoplazmik ve nükleer yapı komponentleri gibi organizmanın kendi bileşenlerine karşı gelişmektedirler(2). ANA bir grup heterojen otoantikorlardan oluşmaktadır. Bu heterojen otoantikorların özgüllüğü çeşitli konnektif doku hastalıklarını ayırt etmeye yardımcı olmaktadır(3). ANA testi SLE başta olmak üzere skleroderma, CREST sendromu (kalsinozis, Reynold's fenomeni, özafagus hareket anomalisi, sklerodaktili ve telenjaktazi), sjögren sendromu, mikst konnektif doku hastalığı, polimiyozit ve dermatomyozit gibi konnektif doku hastalıklarının bir çoğunda saptanabilmektedir(4,5). ANA bu hastalıklarda pozitif olmasına karşın herhangi bir hastalığı olmayan erişkinlerde de %1-5 oranında pozitif olarak tespit edilebilmektedir(6).

Bu antikorların saptanmasında üretici firmalar, farklı teknikler ile maliyeti düşük değerlendirilmesi kolay testler üretmişlerdir. Altın standart lolarak kabul edilen İndirekt immunfloresan (IIF) testi yanında, immunodifüzyon (İD), immunoblotting (İB), ELISA ve son zamanlarda geliştirilen lazer antijen ölçüm yöntemleri geliştirilen bu tekniklerdendir(7,8). IIF yöntemine alternatif geliştirilen bu testlerin sonuçları daha objektif ve daha hızlı çalışmaya olanak sağlarken, tanımlanabilen antijen sayısının sınırlı olması karşısında, IIF testinde çok sayıda nükleer antijen-antikor özgüllüğünün tanımlanabilmesi bu testin diğerlerine avantaj sağlamasına neden olmaktadır(4). Bir çok araştırmacı tarafından bağ dokusu hastalıklarında, IIF teknolojisi kullanılarak otoantikor varlığının belirlenmesinin yanında, antijen tipinin ortaya çıkartılması içinde immunoblotting (IB) yönteminin kullanılması önerilmektedir(9).

Bu çalışmada, iki yıllık süreçte IIF testi ile ANA pozitif saptanan (+1≥ pozitif olan) hastalarda yapılacak olan IB testi ile elde edilen antijen sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

YYÜ Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarında, Haziran 2008-Haziran 2010 tarihleri arasında IIF tekniği ile çalışılan testlerde pozitif saptanan serumların, IB testi ile de çalışılmasından sonra her iki test sonuçlarının karşılaştırılması planlandı. IIF testinde (ANA-Hep-20-10 cells, Euroimmun-Germany) hasta serumları fosfat tamponu (PBS) ile 1/100 oranında dilüe edilerek çalışıldı. IIF tes-

tinde substrat olarak Hep-2 hücre hattı ve konjugat olarak anti-human IgG kullanıldı. Üretici firma önerileri doğrultusunda hazırlanan preparatlar eş zamanlı olarak iki farklı göz tarafından floresan mikroskopunda (Zeiss) x 40 objektifde değerlendirildi. Floresan keskinliği negatif kontrol (0) ve pozitif kontrol (+4) baz alınarak +1 den +5 aralığında semikantitatif olarak değerlendirildi(10). IIF ile +1≤ pozitif olan serumlar IB testine alındı. IB testi (ANA profile 3 Euroline, Euroimmun-Germany) kiti ve Euroblotmaster inkübasyon sistemi kullanılarak 1/100 dilüsyonda üretici firma önerileri doğrultusunda çalışıldı. IB striplerinde saptanan antikorlar bilgisayarda Euroline Scan programı kullanılarak (+, ++, ++++) kantitatif olarak değerlendirildi.

## Bulgular

Bu çalışmada; toplam 1287 hastanın, 367'si (%29) IIF yöntemi ile ANA yönünden, pozitif olarak saptandı (Tablo 1) ve bunlardan 7 hasta birden fazla (2'şer) paterne sahipti (Tablo 1).

**Tablo 1:** İndirekt immunfloresans ile pozitif belirlenen otoantikorların sayı ve tipleri.

	Homojen patern	Nükleolar patern	Granüler patern	Stoplazma granüler	Patern nükleer dot
+	67	59	36	15	2
++	40	28	20	14	5
+++	39	7	21	4	2
++++	6	2	5	-	-
Toplam (374)	152	96	82	33	9

Bu pozitif hastalar (367 hasta) aynı zamanda IB ile çalışıldı ve bunların 155'inde (%42) IB testi ile pozitiflik saptandı (Tablo II). Bu hastalarda 342 antikor tespit edildi. En fazla ds-DNA antijenine karşı 71 (%21), Ro-52 antijenine karşı ise 56 (%16) antikor paterni saptandı. Bunun yanında 65 (%42) hastada birden fazla antikor tespit edilirken, 90 (%58) hastada sadece tek bir antikor pozitifliğine rastlandı. Bu pozitif hastaların 212'sinde (%58) IB testi ile herhangi bir antikor tespit edilm



**Tablo 2:** İmmunoblotting ile saptanan otoantikor tipleri.

	AMA M2	RİB P PROT.	HİSTON	NÜKLEOSOM	DS- DNA	CENT-B	JO-1	PCNA	PM- SCL	SCL- 70	SS-B	RO- 52	SS-A	SM	RNP/ SM
+	3	6	19	15	37	3	4	4	1	2	9	10	4	7	5
++	3	0	11	4	19	0	0	1	0	7	3	17	1	3	4
+++	2	1	2	8	15	4	0	1	2	15	8	29	36	4	13
Toplam 342	8	7	32	27	71	7	4	6	3	24	20	56	41	14	22

## Tartışma

ANA, Holborow ve arkadaşları tarafından 1957 yılında ilk kez indirek immunofluoresans yöntemi ile gösterilmiştir. Bu test hala tarama testi olarak kullanılmakla birlikte, ELISA, immunoblotting, çift immundifüzyon ve immunpresipitasyon gibi ANA'nın tiplerini kesin olarak tayin eden diğer tekniklerde kullanıma girmiştir (7,8,11).

Otoantikorların saptanmasında IIF yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (10). Fakat bu testin sonuçlarının, bunları değerlendiren bireye göre değişebilmesi, subjektif olması ve zaman alması gibi dezavantajlara sahiptir. Bu yöntemde, değerlendiren kişinin bilgi ve deneyimi öne çıkmaktadır. Bunun yanında nükleer antijen tiplendirmesinin bazen yapılamaması diğer bir dezavantajdır. IB yönteminde ise tek bir test stripi ile birden fazla antijenin saptanabilmesi, striplerin saklanıp tekrar değerlendirilebilmesi avantaj oluştururken, ekonomik olarak pahalı olması ve sınırlı sayıda antijeni tespit edebilmesi bu testin dezavantajını oluşturmaktadır (7). Aynı zamanda IB testinde bazı antijenlerin (60-kDa SS-A ve Scl-70) zayıf band oluşturduğu ve bu yüzden yanlış negatifliklere yol açtığı bilinmektedir(11). Bu yüzden özellikle bu testlere ait ANA pozitif sonuçların IB'da negatif görüldüğünde sonuçlar şüphe ile karşılanmalıdır.

Yapılan çalışmalarda, Avşar ve ark.(7) toplam 2587 hasta örneğinde, IIF yöntemi ile ANA araştırdı ve IIF ile pozitif bulunan 215 hasta örneği (+2≤ ANA pozitifliği saptanarak) IB testi ile çalışıldı. Çalışma sonucunda, 215 hastanın 171'inde (% 79.5) en az bir antijen tespit edildi ve en fazla SS-A/Ro-52 antijenine karşı antikor saptandı.

Yumuk ve ark.(9) yaptıkları çalışmada, 2869 serumda

IIF testi ile ANA çalışıldı. Serumların 810 (% 28,2) tanesi ANA pozitif olarak bulundu. ANA pozitif 208 hastanın 126'sında (% 60.5) IB ile antijen tipi belirlenmiş olup en fazla SS-A antijenine karşı antikor tespit edildi. Aksu ve ark.(13) ANA pozitifliğini saptamada IF ve IB metodlarının karşılaştırdıkları çalışmalarında; 629 serum örneğinde ANA varlığını IIF yöntemiyle %39, IB yöntemiyle %28 oranında pozitif olarak belirlerken tüm örneklerin %15'inde her iki yöntemle pozitif tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada en fazla anti-DNA (% 39), anti-Ro52 (% 39) ve anti-SSA (% 26) antijenlerine karşı antikor belirlenmiştir.

Her iki çalışmada ANA pozitif hastaların IB test pozitifliği sırasıyla % 79.5 ve % 60.5 bulunurken bizim çalışmamızda ise % 42 olarak bulundu. Bu çalışmalara göre daha düşük oranda IB pozitifliği ile karşılaşmamız kullandığımız dilüsyonun 1/100 olması ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Düşük dilüsyonlarda çalışılınca IB ile pozitiflik gelme oranında düşmektedir (14). Ayrıca bu iki çalışma da SS-A ya karşı en fazla antikor saptanırken bizim çalışmamızda IIF ile +1≤ pozitif olan serumlar da işleme alındığından dolayı IB test ile hastaların %21'inde ds-DNA antijenine ve Ro-52 (% 16) antijenine karşı antikor saptandı. Çünkü IIF göre homojen patern diğer paternlere göre herhangi bir titrede veya düşük titrelere bile pozitif olarak saptandığında ds-DNA'yı IB testinde görme sıklığı yükselmektedir (14). Bizim IIF sonucumuza görede homojen patern diğer paternlere göre daha yüksek bulunduğundan dolayı ds-DNA daha yüksek oranda saptanmıştır.

Anti-ds-DNA antikorları daha çok sistemik lupus eritematosus (SLE) ve otoimmün karaciğer hastalıklarında tanı kriteri olarak kullanılmaktadır. Çeşitli çalışmalarda SLE hastalarının yaklaşık % 60-

80'inde ds-DNA otoantikor pozitif bulunmaktadır (15). ANA pozitif otoimmün hepatitlerde, ds-DNA antikorlarının sıklığı çalışmada kullanılan yöntemle göre değişkenlik göstermektedir (5). Bu yüzden her ds-DNA pozitifliğinde kullanılan titrenin çok önemli olduğu özellikle bu çalışmada da görüldüğü gibi yüksek oranda ds-DNA oranına rastlanabileceği ve bununla muhakkak hastanın kliniği ile birlikte değerlendirilmesi gerektiği unutulmamalıdır (14).

Bizim yaptığımız bu çalışmanın sonuçları ve diğer çalışmalar başlangıç testi olarak ANA'nın IIF testi ile çalışılması gerektiğini ve arkasından IB testinin daha ayırıcı sonuca gitmesi açısından yapılması gerektiği sonucuna varmaktadır. Bununla daha yüksek titrelerde yapılması ( $160 \leq$ ) gerektiğidir (7,9). Yine bizim çalışmamızda da gösterildiği gibi, IIF testi tanının konulması açısından önemli olmakla birlikte alt tiplerinin belirlenebilmesi için bazen yetersiz kalabilmektedir. Bunun için bu testlerin muhakkak IB gibi bir testle doğrulanması gerekmektedir.

Sonuç olarak; IIF ile ANA varlığının araştırılması, maliyet ve iş gücü değerlendirildiğinde iyi bir tarama testi olarak görülmektedir. Test sonuçlarının özellikle kullanılan titreye göre değerlendirilmesi gerektiğini unutmamak gerekmektedir. Bunun yanında IB testi'nin pahalı olması ve 60-kDa SS-A ve Scl-70'nin antijenlerin strip üzerinde zayıf bir band olarak görülmesi şeklindeki bazı zorluklara ve deneyimli personel gereksinimi gibi dezavantajlara sahip olmasına karşın, bu alanda kullanılan diğer yöntemlere göre daha hassas olması nedeniyle, bu testin tanıda uygun dilüsyonlu IIF ANA sonucundan sonra doğrulama amacı ile kullanılması klinik ile laboratuvar sonucunun uyumu açısından yararlı olacaktır.

## Kaynaklar

1. Roberts-Thomson PJ, Nikoloutsopoulos T, Cox S, Walker JG, Gordon TP. Antinuclear antibody testing in a regional immunopathology laboratory. *Immunol Cell Biol* 2003; 81 (5): 409-2.
2. Fritzler MJ, Salazar M. Diversity and origin of rheumatologic autoantibodies. *Clin Microbiol Rev* 1991; 4 (3): 256-69.
3. Goulvestre C. Antinuclear antibodies. *Presse Med* 2006; 35 (2): 287-95.
4. Aşar İ, Yurtsever SG, Şener AG, Türker M. Mikrobiyoloji laboratuvarında bir yıllık süreçte IFAT ile çalışılan otoantikorların değerlendirilmesi. *İzmir Atatürk Eğitim Hastan Tıp Derg* 2005; 43 (4): 177-80.
5. Ardeniz Ö. Otoimmün karaciğer hastalıklarında antinükleer antikorların değerlendirilmesi ve klinik uygulamadaki yeri. *Guncel Gastroenterol Derg* 2006; 10 (2): 187-93.
6. İyidir ÖT, Erten Ş. Bağ dokusu hastalıklarında otoantikorların klinikte kullanımı. *T Klin J Med Sci* 2007; 27 (2): 236-46.
7. Aşar İ, Şener AG, Vural A, Hızlı N, Türker M. Anti nükleer antikorların pozitif saptandığı hastalarda immunoblotting test sonuçlarının değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2007; 37 (1): 39-42.
8. Fritzler MJ, Wiik A, Fritzler ML, Barr SG: The use and abuse of commercial kits used to detect Autoantibodies. *Arthritis Res Ther* 2003; 5 (4): 192-201.
9. Yumuk Z, Çalışkan Ş, Gündeş S, Willke A. Anti-Nükleer antikorların araştırılması ve saptanmasında kullanılan teknikler. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2005; 35 (1): 40-4.
10. Peene I, Meheus L, Veys EM, De Keyser F: Detection and identification of antinuclear antibodies (ANA) in a large and consecutive cohort of serum samples referred for ANA testing. *Ann Rheum Dis* 2001; 60 (12): 1131-6.
11. Holborow EJ. Antinuclear acid antibodies. *J Clin Pathol Suppl (R Coll Pathol)*. 1979; 13: 107-111.
12. Phan TG, Wong RCW, Adelstein S. Autoantibodies to extractable nuclear antigens: making detection and interpretation more meaningful. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9 (1): 1-7.
13. Aksu G, Gülez N, Karaca N, Kütükçüler N. Antinükleer antikor saptanmasında immünlüresan ve immunoblot tekniklerinin karşılaştırılması. 20. Ulusal İmmünoloji kongresi, Bildiri ve Özet Kitabı, s.102-103.
14. Kang I, Siperstein R, Quan T, Breitenstein ML. Utility of age, gender, ANA titer and pattern as predictors of anti-ENA and-dsDNA antibodies. *Clin Rheumatol* 2004; 23 (6): 509-15.
15. Yumuk Z, Çalışkan Ş. Klinik laboratuvarında kullanılan otoantikor tanı testlerinin değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2008; 38 (1): 37-41.
16. Egner W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. *J Clin Pathol* 2000; 53 (6): 424-32.

Sorumlu Yazar: Dr. Aytekin ÇIKMAN,  
Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi,  
Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Maraş Caddesi  
65100, Van- TÜRKİYE  
Tel: 0 432 215 04 74- 6002  
GSM: 0 505 691 82 00  
E-mail: draytekin65@hotmail.com

## Serum Selenium, Copper, Zinc Levels in Patients With Pulmonary Tuberculosis and Healthy Subjects

### Akciğer Tüberkülozlu Hastalar ve Sağlıklı Bireylerde Serum Selenyum, Bakır ve Çinko Düzeyleri

Salih CESUR<sup>1</sup>, Osman AYKUT<sup>2</sup>, İsmail CEYHAN<sup>3</sup>, Yalçın EROĞLU<sup>2</sup>, Nevin TACİ HOCA<sup>4</sup>, Ebru TEPEÇALI<sup>2</sup>, Filiz ÇİMEN<sup>4</sup>, Günnur ORHAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara- TÜRKİYE

<sup>2</sup>Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Ulusal Zehir Danışma Merkezi, Ankara- TÜRKİYE

<sup>3</sup>Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Tüberküloz Referans ve Araştırma Laboratuvarı, Ankara-TÜRKİYE

<sup>4</sup>Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara-TÜRKİYE

#### Abstract

**Aim:** The objective of this study was to determine the alteration in serum trace element concentration, including zinc, copper, and selenium in patients with newly diagnosed active pulmonary tuberculosis and compare them with the results of healthy subjects.

**Material and Methods:** Seventy patients with pulmonary tuberculosis and 30 healthy individuals were included in this study.

The serum zinc, copper and selenium concentrations were measured by using atomic absorption spectrophotometer in sera of patients with pulmonary tuberculosis and statistically compared with those of healthy subjects.

**Results:** Serum copper concentration was found to be significantly higher in patients with pulmonary tuberculosis than that of healthy subjects ( $1.07 \pm 0.234$  mg/dl, and  $0.83 \pm 0.17$ mg/dl, respectively) ( $p < 0.001$ ).

Serum zinc concentration was not found to be significant statistically between in patients with pulmonary tuberculosis and healthy individuals ( $0.66 \pm 0.37$  mg/dl, and  $0.55 \pm 0.33$  mg/dl, respectively) ( $p > 0.001$ ).

Serum selenium concentration was significantly higher in patients with pulmonary tuberculosis than healthy subjects ( $0.24 \pm 0.55$  mg/dl, and  $0.17 \pm 0.06$ mg/dl) ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** Serum trace element concentrations showed significant alterations in patients with pulmonary tuberculosis compared with healthy subjects. In conclusion, further controlled clinical studies with patients before and after treatment are required for the determination of the clinical importance of serum Cu, Se and Zn levels in patients with tuberculosis patients.

**Keywords:** Pulmonary tuberculosis; trace elements.

#### Özet

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, yeni tanı almış akciğer tüberkülozlu hastaların serum çinko (Zn), bakır (Cu), ve selenyum (Se) düzeylerinin belirlenmesi ve sağlıklı bireylerinkine karşılaştırılmasıydı.

**Gereç ve Yöntem :** Çalışmaya 70 akciğer tüberkülozlu hasta ile 30 sağlıklı birey dahil edildi. Akciğer tüberkülozlu hastalar ve kontrol grubunun serum çinko, bakır ve selenyum düzeyleri atomik absorpsiyon spektrofotometre ile ölçüldü ve sağlıklı bireylerinkiyle istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

**Bulgular:** Serum bakır konsantrasyonu akciğer tüberkülozlu hastalarda sağlıklı bireylerden anlamlı oranda yüksek bulundu ( sırasıyla;  $1.07 \pm 0.234$  mg/dl, ve  $0.83 \pm 0.17$ mg/dl) ( $p < 0.001$ ).

Serum çinko konsantrasyonu akciğer tüberkülozlu hastalarla sağlıklı bireyler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi ( sırasıyla;  $0.66 \pm 0.37$  mg/dl, ve  $0.55 \pm 0.33$  mg/dl) ( $p > 0.001$ ).

Serum selenyum konsantrasyonu akciğer tüberkülozlu hastalarda sağlıklı bireylerden anlamlı oranda yüksekti ( sırasıyla;  $0.24 \pm 0.55$  mg/dl ve  $0.17 \pm 0.06$ mg/dl) ( $p < 0.001$ ).

**Sonuç:** Serum eser elementleri düzeyleri sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında tüberkülozlu hastalarda belirgin değişiklik gösterdi. Tüberkülozlu hastalarda serum Cu, Se ve Zn düzeylerinin klinik öneminin belirlenebilmesi için, tüberkülozlu hastalarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası yapılacak başka kontrollü çalışmalara gereksinim vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Akciğer tüberkülozu; eser elementler.

## Introduction

Trace elements are found in the structure of many metalloproteins and metallo enzymes play important roles biochemically and nutritionally (1).

It has been frequently reported that the levels of serum trace elements are an important marker of various infectious and non infectious diseases. However, these parameters are not specific to disease, therefore, other serum parameters should be used for definitive diagnosis (2).

Tuberculosis is common public health problem in Turkey and throughout the world (3). Immun response and various immunochemical mediators playing part in immunoresponse account for the metabolism of trace elements such as zinc, copper and selenium and influence their levels. Immunochemical mechanisms activated by the host against tuberculosis may influence the trace element metabolism of the host (4,5).

In this study, serum copper, (Cu), zinc (Zn) and Selenium (Se) levels were investigated in newly diagnosed active pulmonary tuberculosis patients and the results were compared with those in healthy control group.

## Material and Methods

Seventy patients with active pulmonary tuberculosis (44 male, mean age: 48.72, 26 female, mean age: 32.76) and 30 healthy volunteers (17 male, mean age: 43.52 and 13 female, mean age: 36.84) were included in the study. The diagnosis of pulmonary tuberculosis was made with clinical/radiological and bacteriological findings. Healthy control group was chosen from subjects without tuberculosis or any other disease.

In serum samples copper (Cu), zinc (Zn) and selenium (Se) levels were measured by using atomic absorption spectrometer.

In statistical evaluation, SPSS Windows 6 program was used. Mean values were compared between two groups with Chi-square test. All results were given as mean value  $\pm$  standard deviation.  $p < 0.001$  was considered statistically significant.

## Results

Serum copper (Cu) concentration was established to be  $1.07 \pm 0.234$  mg/dl in patients with pulmonary tuberculosis and  $0.83 \pm 0.17$  mg/dl in healthy controls.

Serum Cu concentration was significantly higher in patients than healthy controls ( $p < 0.001$ ).

Serum selenium (Se) concentration was  $0.24 \pm 0.55$  mg/dl in patients with pulmonary tuberculosis and  $0.17 \pm 0.06$  mg/dl in healthy controls, respectively. Serum Se concentration was significantly higher in patients with tuberculosis than healthy subjects ( $p < 0.001$ ).

Serum zinc (Zn) concentration was found to be  $0.66 \pm 0.37$  mg/dl in patients with pulmonary tuberculosis and  $0.55 \pm 0.33$  mg/dl in healthy controls, without any significant difference between two groups ( $p > 0.001$ ). Results were demonstrated in Table 1.

**Table 1:** Serum Cu, Se and Zn concentrations in patients with pulmonary tuberculosis and healthy controls.

Serum trace elements	Patients (Mean $\pm$ SD*)	Healthy subjects (Mean $\pm$ SD)	p value
Cu (mg/dl)	$1.07 \pm 0.234$	$0.83 \pm 0.17$	$p < 0.001$
Se (mg/dl)	$0.24 \pm 0.55$	$0.17 \pm 0.06$	$p < 0.001$
Zn (mg/dl)	$0.66 \pm 0.37$	$0.55 \pm 0.33$	$p > 0.001$

SD\*: Standard deviation

## Discussion

Tuberculosis is an important public health problem in Turkey and all over the world (3). Environmental factors and some diseases play an important part in the pathogenesis of tuberculosis. Trace elements especially Zn and Cu play important roles in host defence and metabolism. Zn and Cu metabolism of the host is altered markedly in all infections and inflammatory conditions. It has been shown that some environmental factors and diseases change the homeostasis of trace elements. Characteristic changes in trace element metabolism is an important part of acute phase response (4-10). Serum Cu, Zn and Se are element playing an important role in immun system. Cellular immunity and some mediator have important functions in tuberculosis infection. Among cytokines, interferon gamma, TNF alpha, and IL-12 are important in tuberculosis infection (6,8,11,12). There is close relationship between cytokines and trace elements. Some cytokines lead to hypozincemia by influencing Zn transport, which in turn causes immune response to decrease. Some other cytokines cause copper concentration to increase. For example, IL-1 gives rise to hypercopperemia by increasing ceruloplasmin (4,5-10). In the present study, while serum Cu and Se concentration were significantly higher in tuberculosis patients than healthy controls, no significant difference was seen serum Zn concentration.

Çiftçi et al. (8) reported that in newly diagnosed pulmonary tuberculosis patients, two months after treatment, serum Se and Cu levels were unaffected whilst serum Zn level increased substantially and Cu/Zn ratio were decreased.

Koyanagi et al. (7) established that tuberculosis patients have significantly lower Zn and Se levels than control group whereas serum Cu concentration was significantly higher.

In patients with pulmonary tuberculosis, a strong relation between hypozincemia and hyporetinolemia and acute phase response (CRP). Therefore, it has been stressed that while evaluating trace elements in serum, the degree of acute phase response should be taken into consideration.

Liu et al. (6), in their study on tuberculosis patients and healthy individuals, found serum Zn, Cu and Se levels to be significantly lower in controls.

Deveci and colleagues (12) found that serum Cu levels were significantly lower in patients with active tuberculosis than healthy controls.

In our study, serum Cu and Se concentrations were significantly higher in patients with pulmonary tuberculosis than healthy controls ( $p < 0.001$ ), while serum Zn concentrations were not significantly different. Our findings are compatible with those of Koyanagi et al. (7) and discrepant with

Deveci et al. (12). As to Zn and Se levels, our results different from those reported in the literature, which may be attributed to the selection of patients from different subgroups such as active or inactive tuberculosis and to differences in treatment status of the patients.

In conclusion, it is our suggestion that further controlled clinical studies with patients not undergoing treatment and in different subgroups are required for the determination of the importance of serum Cu, Se and Zn levels in patients with tuberculosis patients.

## References

1. Suzuki K, Oyama R, Hayashi E, Arakawa Y. Liver disease and essential trace elements. *Nippon Rinsho* 1996; 54:85-92.
2. Nakayama A, Fukuda H, Ebara M, et al. A new diagnostic method for chronic hepatitis, liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma based on serum metallothionein, copper and zinc level. *Bio Pharm Bull* 2002; 25:426-31.
3. Cesur S. Türkiye’de ve dünyada tüberküloz epidemiyolojisi. *Mikrobiyol Bul.* 2004;38:461-9.
4. Kalkan A, Bingöl NK, Bulut V, et al. Serum copper, zinc and selenium concentrations in brucellosis. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)* 2000; 14: 205-8. (Turkish)
5. Seez-Lorenz X, Lagratta F. The acute phase host reaction during bacterial infection and its clinical impact in children. *Pediatr Infect Dis.* 1993; 12:83-7.
6. Liu X, Ding L, Wang Y, Yang Y. Determination of trace elements in serum of tuberculosis patients. *Wei Sheng Yan Jiu.* 2000; 29: 395-6. (Abstract)
7. Koyanagi A, Kuffo D, Gresely L, et al. Relationships between serum concentrations of C-reactive protein and micronutrients, in patients with tuberculosis. *Ann Trop Med Parasitol.* 2004; 98: 391-9.
8. Çiftçi TU, Çiftçi B, Yis O, et al. Changes in serum selenium, copper, zinc levels and Cu/Zn ratio in patients with pulmonary tuberculosis during therapy. *Biol Trace Elem Res.* 2003; 95: 65-71.
9. Biesel WR. Trace elements in infectious processes. *Med Clin North Am* 1976; 60: 831.
10. Lewis EJ, Hanahoe ST. In vitro changes in plasma acute phase protein levels in rat induced by slow release of IL-1, IL-6 and TNF. *Mediators Inflamm* 1992; 1: 39-44.
11. Sharma S, Sharma M, Roy S, et al. Mycobacterium tuberculosis induces high production of nitric oxide in coordination with production of tumour necrosis factor-alpha in patients with fresh active tuberculosis but not in MDR tuberculosis. *Immunol Cell Biol.* 2004; 82:377-82.
12. Deveci F, İlhan N. *Biol Trace Elem Res.* 2003 ; 95:29-38.

Corresponding Author: Doç. Dr. Salih CESUR  
Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ulucanlar Cad.  
Cebeci, Ankara- TÜRKİYE  
E-mail: scesur89@yahoo.com

## A Grubu $\beta$ -Hemolitik Streptokoklarda Makrolid Direncinin Fenotiplerinin Araştırılması

### *Phenotypes of Macrolide Resistance in Group A Beta-Haemolytic Streptococci Strains*

Mustafa GÜNEY<sup>1</sup>, Hanefi Cem GÜL<sup>2</sup>, Ahmet Celal BAŞUSTAOĞLU<sup>3</sup>

<sup>1</sup>GATF Kan Eğitim Merkezi ve Kan Bankası Müdürlüğü, Ankara- TÜRKİYE

<sup>2</sup>GATF Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD., Ankara- TÜRKİYE

<sup>3</sup>GATF Tıbbi Mikrobiyoloji AD., Ankara- TÜRKİYE

### Özet

Bu çalışmanın amacı değişik klinik örneklerde makrolid direncinin fenotipik özelliklerini incelemektir.

Bu çalışmaya Ocak 2003 ve Aralık 2007 arasında değişik klinik örneklerden izole edilen 208 A grubu beta hemolitik streptokok suşu dahil edildi. Eritromisin için antimikrobiyal duyarlılık testi disk difüzyon metoduna göre yapıldı. Ayrıca makrolid direnç fenotipleri eritromisin dirençli izolatlarda double disk(D-zone) testine göre yapıldı.

208 A grubu beta hemolitik streptokok suşundan 12'si (%5.7) eritromisine dirençli olarak bulundu. Bu eritromisine dirençli oniki suşun dokuzu M tipi direnç fenotipine sahipken üçü indüklenebilir MLSB tipi dirence sahip olarak tespit edilmiştir. Yapısal MLSB tipi direnç bulunmamıştır.

Sonuç olarak hastanemizde eritromisin direnci pratik olarak önemli olmamasına rağmen izole edilen A grubu beta hemolitik streptokoklara D-zone testi yapılmalıdır. Bu uygulama tedavinin başarısızlığını sınırlandırabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Eritromisin direnci; MLS<sub>B</sub>; streptokoklar.

### Abstract

*The aim of this study was to investigate phenotypic mechanisms of resistance to macrolides in various clinical samples.*

*Two hundred and eight group A beta-haemolytic streptococci strains isolated from various clinical samples between January 2003-December 2007 were included in this study. Antibiotic susceptibility testing for erythromycin was performed by disk diffusion method. In addition, Macrolide resistance phenotypes were investigated in erythromycin resistant isolates by double disk (D-zone) test.*

*Our results showed that 12 (%5.7) isolates of group A beta-haemolytic streptococci were resistant to erythromycin among 208 strains. Of this twelve erythromycin resistant strains, nine had M resistance phenotype and three had inducible MLSB resistance phenotypes. Constitutive MLSB resistance phenotype was not found.*

*In conclusion, though resistance to erythromycin in our hospital has no practical significance, these results suggest that susceptibility test for macrolides and D-zone test should be performed whenever group A beta-haemolytic streptococci are isolated in our hospital settings. This approach might limit the therapeutic failures due to macrolide resistance.*

**Keywords:** Erythromycin resistance; MLS<sub>B</sub>; streptococci.

## Giriş

Beta-hemolitik streptokoklar Lancefield sınıflandırmasına göre A-H ve K-V arasında serogruplara ayrılmaktadır. Bunlar içinde insanlarda en sık enfeksiyona neden olan A grubu  $\beta$ -hemolitik streptokoklardır (1). A grubu  $\beta$ -hemolitik streptokoklar (AGBHS) akut tonsilit ve farenjitin yanında deri enfeksiyonları puerperal sepsis, pnömoni, menenjit, nekrotizan fasiit, toksik şok sendromu ve enfeksiyon sonrası akut romatizmal ateş ve akut gomerulonefrit gibi ciddi komplikasyonlara neden olmaktadır. A grubu  $\beta$ -hemolitik streptokokların neden olduğu bu enfeksiyonların tedavisinde ilk seçenek penisilin grubu antimikrobiyal ilaçlardır ve kullanıma girdiği 1941 yılından bu yana bu ilaca karşı hiçbir suş direnç geliştirmemiştir (2). Ancak penisiline alerjisi olan hastalarda ise en iyi alternatif tedavi seçeneği ise makrolidlerdir (3). Fakat ilk kez Lowbury ve Hurst 1959 yılında dört yanıklı hastanın yara örneklerinden eritromisin dirençli *Streptococcus pyogenes* suşlarını bildirdiğinden bu yana son elli yılda eritromisin ve diğer makrolid grubu antibiyotiklere karşı direnç, artan oranlarda bildirilmeye başlanmıştır (4). Nitekim 2003 yılında yapılan bir çalışmada dört yılda A grubu beta hemolitik streptokoklarda eritromisin direnci %2'den %14'e çıktığını bildirmiştir (5). Eritromisin direnci fenotipik olarak başlıca iki tipe ayrılmaktadır. Birincisi M tipi direnç olarak adlandırılan ve mef geni tarafından aktarılan intrasellüler makrolidlerin eflüks pompa sistemi ile dışarı atım mekanizmasıdır. Bu tip dirençten linkozamidler, 16 üyeli makrolidler ve streptograminler etkilenmez. Diğeri ise makrolid linkozamid ve streptogramin (MLS<sub>B</sub>) tipi direnç olarak adlandırılır ve erm genleri tarafından aktarılır. Bu formda makrolidler ve linkozamidler ve streptograminlere karşı direnç gelişir. Bu direnç tipi de yapısal (cMLS<sub>B</sub>) ve indüklenebilir (iMLS<sub>B</sub>) olmak üzere ikiye ayrılır. Bakteri ribozomunun 23S rRNA ünitesinde adenin metilasyonu sonucu hedef yerinde meydana gelen değişikliğe bağlıdır. Özellikle iMLS<sub>B</sub> tipi fenotipin saptanması önemlidir. Zira hastaya uygulanan eritromisin enzim indüksiyonu yapabilir ve bu durumda tedavi sırasında eritromisin ve linkozamidlere karşı direnç gelişebilmektedir (6). Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş A grubu  $\beta$ -Hemolitik streptokoklarda eritromisin direnç oranlarını ve fenotiplerini tespit ederek verilerimizi bu dergi aracılığıyla paylaşmak amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Çalışmamıza Ocak 2003 ile Aralık 2007 tarihleri arasında GATA Eğitim Hastanesi'nde farklı klinik örneklerden izole edilen 208 A grubu  $\beta$ -hemolitik streptokok suşu alındı. Gelen klinik örnekler %5'lik koyun kanlı agara ekilerek %5-10'lik CO<sub>2</sub>'li etüvde bir gece inkübe edildi. İn-kübasyon sonucunda beta hemoliz gösteren koloniler kon-

vansiyonel yöntemlerle tanımlandı (7). Bu maksatla Gram boyama ve katalaz testi yapıldı. Gram pozitif kok ve katalaz negatif izolatlardan basitrasin duyarlı trimetoprim/sulfametaksazol dirençli suşlar beta hemolitik streptokok olarak değerlendirildi ve grup tayini için BBL Streptocard (Becton Dickinson, USA) lateks aglütinasyon testine alındılar. Daha sonra izolatların eritromisin (15 $\mu$ g) ve klindamisin (2  $\mu$ g) duyarlılıkları CLSI önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer Disk Difüzyon yöntemi kullanılarak yapıldı (8). Eritromisin dirençli izolatlar için fenotiplerini tespit edebilmek amacıyla eritromisin ve klindamisin diskleri birbirlerinden 15-22 mm mesafede yerleştirilerek yapılan D-test yöntemi ile tespit edildi (9).

## Sonuç

Bu çalışmada A grubu beta hemolitik streptokok olarak tiplendirilen 208 izolat araştırmaya dahil edildi. Çalışmada 12 izolat eritromisine dirençli (%5.7) olarak bulundu ve bu 12 suşun sadece ikisi (%16.6) indüklenebilir MLS<sub>B</sub> tipi dirence sahip olduğu tespit edilmiştir. Geri kalan dokuz suş ise M Tipi dirençli (%83.4) olarak bulunmuştur. Çalışmada cMLS<sub>B</sub> tipi direnç tespit edilmemiştir.

## Tartışma

Beta hemolitik streptokok enfeksiyonlarının tedavisinde ilk tercih edilen antibiyotik olan penisiline bugüne kadar yapılan yurt içi ve yurt dışı çalışmalarda MIC değerlerinin artmasına karşın henüz direnç bildirilmemiştir (1, 10, 11). Penisiline alerjisi olan veya penisilin tedavisine cevap vermeyen hastalarda eritromisin veya diğer makrolid türevleri kullanılır (11). Ancak başlangıçta da belirtildiği gibi son elli yıldır giderek artan oranlarda A grubu beta hemolitik streptokoklarda direnç bildirilmeye başlanmıştır. Eritromisine duyarlılık coğrafik bölgeler arasında ve hatta aynı bölgede farklı zaman dilimlerinde değişiklik göstermektedir (12). Türkiye'de bu konuda yapılmış pek çok çalışma vardır. Erdoğan ve ark.ları (13) %5.8, Kaya ve ark.ları (14) % 4.25, Berkiten 1970 ile 2000 yılları arası yapılan farklı çalışmalardan hazırladığı derlemede eritromisine karşı direnç oranını % 0.38-20 olarak bildirmiştir (2). Günümüzde yine Berkiten'nin yapmış olduğu bir başka çalışmada 2000-2005 yılları arasında yapılmış farklı çalışmalarda eritromisin direncinin % 2.7 ile 6.7 arasında olduğu bildirilmiştir (6). Bu açıdan bakıldığında bu çalışmada tespit ettiğimiz % 5.7'lik direnç oranı ülkemizde yayınlanmış diğer verilerle uyumlu olarak bulunmuştur.

A grubu beta hemolitik streptokoklarda eritromisine karşı direnç fenotipleri de farklı bölgelerde çeşitlilik göstermektedir. Desjardins ve ark. ları 593 izolat üzerinden yaptıkları çalışmada eritromisin direncini % 8.2 olarak bildirmişler ve bunlar içinde M tipi direnç % 67.3, iMLS<sub>B</sub> TİPİ direnç ise % 16.3 cMLS<sub>B</sub> tipi fenotipi ise % 19.4 olarak

bildirmişlerdir (5). Kore’de yapılan bir başka çalışmada ise 51 eritromisin dirençli *Streptococcus pyogenes* suşunda iMLSB tipi direnç %51, cMLSB tipi direnç %31 ve M tipi direnç ise %18 olarak tespit etmişlerdir (3). İspanya’da Pe’rez-Trallero ve ark. larının yaptığı benzer bir çalışmada ise 445 *Streptococcus pyogenes* suşunda % 64.5’inde M tipi direnç saptanırken MLSB tipi direnç % 35.5 olarak bulunmuştur (15). Bu MLSB tipi direncin % 94.9’u iMLSB tipi direnç iken % 5.1’i, cMLSB tipi direnç olarak bildirilmiştir. Bu konuda yapılmış bir başka çalışmada 3188 AGBHS suşu değerlendirilmiş ve toplamda eritromisin direnci % 6.8 olarak bildirilmiştir. Araştırmacılar bu dirençli izolatların % 83.8’i M tipi, % 9.3’ünü iMLSB tipi ve % 6.9’unun ise cMLSB olduğunu tespit etmişlerdir (16). Türkiye’de ise durum pek farklı değildir. Şenses ve ark. ları 2000 yılında yaptıkları bir çalışmada eritromisine dirençli buldukları 4 suşun üçü M tipi ve biri de iMLSB tipi direnç olduğunu bildirmişlerdir (17). Açıkgöz ve ark. ise tespit ettikleri eritromisin dirençli 36 izolatın % 47.2’si M tipi, %44.4’ü iMLSB tipi ve %8.3’ü de cMLSB tipi direnç olarak tespit etmişlerdir (18). Ayrıca 1970 ile 2005 yıllarını içeren iki farklı çalışmaya da bakıldığında benzer sonuçlar görülmektedir (2, 6). Bu yapılan çalışmada 208 A grubu β-hemolitik streptokok suşunda 12 izolat eritromisine dirençli(% 5.7) olarak bulundu ve bu 12 suşun sadece ikisi (% 16.6) indüklenabilir MLSB tipi dirence sahip olduğu tespit edilmiştir. Geri kalan dokuz suş ise M Tipi dirençli (%83.4) olarak bulunmuştur. Çalışmada cMLSB tipi direnç tespit edilmemiştir. Bu açıdan bakıldığında A grubu β-hemolitik streptokok enfeksiyonları, ülkemiz açısından tedbir almaya zorlayacak kadar yüksek bir eritromisin direncine sahip olmadığı değerlendirilmiştir. Ayrıca hem ülkemizde hem de dünyada en çok görülen direnç fenotipi M tipi direnç olduğundan dolayı bu çalışmamızın verileri ile paralellik göstermektedir.

Hastanemiz açısından A grubu β-hemolitik streptokoklarda eritromisin direncinin pratikte ciddi bir sorun teşkil etmediği ve ilk seçenek penisiline, alternatif olan, eritromisinin güvenle kullanılabilceği ortaya çıkmıştır. İndüklenilen klindamisin direnç oranı hastanemizde düşük olarak bulunmuştur. Ancak eritromisin ile tedavi gerektiği hallerde, tedavi başarısızlığını önlemek için rutin mikrobiyoloji labortuvarları tarafından iMLSB tipi direnç test edilmeli ve kliniklere bildirilmesi önerilmektedir.

## Kaynaklar

1. Başarı F, Bayraktar B, Bulut E. Beta-hemolitik streptokokların gruplandırılması ve çeşitli antibiyotiklere dirençleri. Türk Mikrobiyol. Cem. Derg. 2008; 38 (3-4) : 106-11.
2. Berkiten R. Streptococcus pyogenes suşlarında eritromisin direnç fenotipleri ve 1970-2001 yılları arasında Türkiye’de izole edilen suşlarda direnç. ANKEM Dergisi 2003; 17(4): 429-34.
3. Bae SY, Kim JS, Kwon JA. Phenotypes and genotypes of macrolide-

resistant. Streptococcus pyogenes isolated in Seoul, Korea. J. Med. Microbiol. 2007; 56, 229-35.

4. Lowbury EJ, Hurst L: The sensitivity of staphylococci and other wound bacteria to erythromycin, oleandomycin and spiramycin, J. Clin. Pathol. 1959 ;12(2): 163-9.
5. Desjardins M, Delgaty KL, Ramotar K, Seetaram C, Toye B. Prevalence and Mechanisms of Erythromycin Resistance in Group A and Group B Streptococcus: Implications for Reporting Susceptibility Results. J. Clin. Microbiol. 2004; 42 (12): 5620-3.
6. Berkiten R. Streptococcus pyogenes suşlarında eritromisin direnç fenotipleri ve 1970-2001 yılları arasında Türkiye’de izole edilen suşlarda direnç. ANKEM Dergisi 2003; 17(4): 429-34.
7. Spellerberg B, Brandt C. Streptococcus In: Murray PR, Baron EJ, Landry L, Jorgensen JH, Pfaller MA (eds). Manual Of Clinical Microbiology, 9th ed. Washington DC , ASM Press, 2007: 412-29.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (Çeviri Ed.: Gür D): Antibiyotik Duyarlılık Testleri için Uygulama Standartları; Onyedinci Bilgi Eki, M100-S17, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara 2007.
9. Öngen B. A Grubu Streptokok İnfeksiyonlarında Bakteriyolojik tanı ANKEM Dergisi 2004; 18 (Ek 2): 45-50.
10. Capoor MR, Nair D, Deb M, Batra K, Aggarwa P. Resistance to erythromycin and rising penicilin MIC in Streptococcus pyogenes in India. Jpn. J. Infect. Dis. 2006;59: 334-36.
11. Pe’rez-Trallero E, Montes M, Orden B, Tamayo E, Arenzana JM, Marimón JM. Phenotypic and genotypic characterization of Streptococcus pyogenes isolates displaying the MLSB phenotype of macrolide resistance in Spain, 1999 to 2005. Antimicrob. Agents Chemother. 2007; 51(4): 1228-33.
12. Bayraktar B, Başarı F, Bulut E. A Grubu Beta-hemolitik streptokoklarda antibiyotik duyarlılığı ve makrolid direnç fenotipi. ANKEM Dergisi 2008; 22(3): 127-31
13. Erdoğan H, Öngen B, Öksüz L, Gürler N, Töreci K. A grubu beta hemolitik streptokoklarda antibiyotik direnci ve makrolid direnç fenotipinin saptanması. ANKEM Dergisi 2003; 17(1): 85-7.
14. Kaya GE, Yücel M, Karakoç AE. A grubu beta-hemolitik streptokoklarda eritromisin direnç oranlarının ve fenotipinin araştırılması. Klinik Dergisi 2005; 18: 246.
15. Pe’rez-Trallero E, Martín-Herrero JE, Mazo’n A, García-Delafuente C, Robles P, Iriarte V. Antimicrobial resistance among respiratory pathogens in Spain: Latest data and changes over 11 years (1996-1997 to 2006-2007). Antimicrob. Agents Chemother. 2010; 54(7): 2953-2959.
16. Pavlovic L, Grego E, Sipetic-Grujicic S. Prevalence of macrolide resistance in Streptococcus pyogenes collected in Serbia. Jpn. J. Infect. Dis. 2010;63: 275-6.
17. Şenses Z, Başustaoğlu A, Gür D, Kocagöz S, Doğançlı L: A grubu beta-hemolitik streptokoklarda eski ve yeni makrolid direnç paterninin irdelenmesi(Özet), 29. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya 2000, Kongre Kitabı s.324.
18. Açıkgöz ZC, Göçer S, Tuncer S. Macrolide resistance determinants of group A streptococci in Ankara, Turkey. J. Antimicrob. Chemother. 2003; 52: 110-2.

Sorumlu Yazar: Mustafa GÜNEY

GATF Kan Eğitim ve Kan Bankası Müdürlüğü Etlik,  
Ankara-TÜRKİYE

Tel: 0 312 304 49 02

GSM: 0 532 296 62 57

E-mail: drmguney@yahoo.com



## Pseudomonas aeruginosa Suşlarında Metallobeta-laktamaz Enziminin Taranmasında İki Farklı Yöntemin (Kombine Disk ve E-Test) Karşılaştırılması

### The Comparison of Two Different Methods (Combined Disk And E-Test) In The Screening of Metallobeta-lactamase Enzyme In Strains Of Pseudomonas Aeruginosa

Salih CESUR<sup>1</sup>, Hasan IRMAK<sup>1</sup>, Selcan ARSLAN ÖZEL<sup>1</sup>, Zevcen Esra BÜYÜKBAŞARAN<sup>2</sup>, Eda YILDIZ<sup>2</sup>, Sami KINIKLI<sup>1</sup>, Esra KARAKOÇ<sup>2</sup>, Ali Pekcan DEMİRÖZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara- TÜRKİYE

<sup>2</sup> Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara- TÜRKİYE

#### Özet

**Amaç:** *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) suşları çok çeşitli mekanizmalarla beta-laktam grubu antibiyotiklere direnç geliştirirler. Bu mekanizmalardan biri de karbapenem grubu antibiyotikleri hidrolize eden metallobeta-laktamazlar enzimi üretimidir.

Bu çalışmanın amacı, daha önceden kombine disk (imipenem ve imipenem+EDTA) yöntemi ile metallobeta-laktamaz (MBL) enzimi ürettiği saptanan 55 *P. aeruginosa* suşu ile, MBL negatif saptanan 45 suşta, E-test yöntemiyle MBL enzimi varlığının araştırılması ve her iki yöntemin karşılaştırılmasıdır.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya kombine disk yöntemiyle MBL pozitif saptanan 45 *P.aeruginosa* suşu ile MBL negatif saptanan 45 suş olmak üzere toplam 100 *P.aeruginosa* suşu dahil edildi. Suşlarda MBL varlığı IP/IPI E-test strip-leri ile araştırıldı.

**MBL yorumlanması;** IP/ IPI MIC oranının  $\geq 8$  veya  $\geq 3$  log dilüsyon olması MBL üretimi olarak değerlendirildi. Phantom zonu veya elipste deformasyon IP/ IPI oranına bakılmaksızın MBL pozitifliği olarak değerlendirildi. IP/IPI oranının  $>256/>64$  veya  $<4/<1$  olduğunda ise tanımlanamayan olarak değerlendirildi. Tüm suşlar genotipik testlerle doğrulanmak amacıyla muhafaza edildi.

**Bulgular:** Kombine disk yöntemiyle MBL pozitif saptanan 55 suşun 15'inde (%27.2) E-test ile pozitiflik saptanırken, 35'i negatif (%63.6),5'i (%9.09) tanımlanamayan olarak saptandı.

Kombine disk yöntemiyle negatif saptanan 45 suşun 14'ü (%31) E test ile pozitif bulunurken, 29'u (%64.4) negatif, 2'si (%4.4) tanımlanamayan olarak belirlendi.

*P.aeruginosa* suşlarında MBL enziminin araştırılmasında kombine disk yöntemi ile E-test yöntemi arasında korelasyon saptanmadı.

**Sonuç:** Bu suşlarda, MBL varlığının moleküler yöntemlerle de doğrulanması ve her iki tarama yönteminin altın standart olan moleküler yöntemler esas alınarak birbirleriyle değerlendirilmesi sonucunda testlerin performansının daha iyi yorumlanabileceği görüşündeyiz.

**Anahtar Kelimeler:** *Pseudomonas aeruginosa*; metallobeta-laktamaz enzimi; tarama testleri; kombine disk yöntemi; E-test.

## Abstract

**Aim:** *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) strains develop resistance to beta-lactam group antibiotics through various mechanisms. One of these mechanisms is the production of metallobeta-lactamase (MBL) enzyme which hydrolyse karbanapem group antibiotics.

The aim of this study was to investigate the presence of MBL enzyme using E- test method in 55 *Pseudomonas aeruginosa* strains which were previously established to produce MBL enzyme and 45 strains which were found to be MBL negative with combined disk (imipenem and imipenem+EDTA) method and to compare two methods.

**Material and Methods:** Overall 100 *P. aeruginosa* strains ( 45 strains found MBL positive and 45 strains found to be negative by combined disk method) were included in the study. The presence of MBL in strains was investigated using IP/IPI test strips.

**The interpretation of MBL:** When IP/IPI MIC ratio was  $\geq 8$  or  $\geq 3$  log dilution, this was considered as the production of MBL. And it was evaluated as MBL positivity regardless of the IP/IPI ratio of phantom zone or ellipse deformation. When IP/IPI ratio was  $>256/64$  or  $<4/1$ , it was evaluated as undefined. All strains were preserved for confirmation with genotypic tests.

**Results:** In 15 (27.2%) out of 55 strains in which MBL positivity was found with combined disk method was found to be positive, 35 (63.6%) was found to be negative and 5 (9.09 %) undefined with E-test . No correlation was found between combined disk method and E test method in the investigation of MBL enzyme in *Pseudomonas aeruginosa* strains.

**Conclusion:** It is our conclusion that the presence of MBL in these strains should be confirmed with molecular methods and that the performance of both screening methods should be evaluated based upon molecular methods, which are gold standard.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*; metallobeta-lactamase enzyme; screening tests; combined disk method; E-test.

## Giriş

*Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) hastane ortamında özellikle yoğun bakım ünitelerinde en sık karşılaşılan etken olması, neden olduğu enfeksiyonların mortalite oranlarının yüksek olması ve farklı mekanizmalarla birden fazla antibiyotik grubuna direnç geliştirebilmesi nedeniyle Gram negatif bakteriyel enfeksiyonlar içerisinde önemli bir yer tutmaktadır. Acinetobacter türleri ile birlikte mortalite oranı yüksek olan nozokomiyal pnömonilerin en sık etkenidir (1).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda hastane ortamında en sık karşılaşılan gram negatif basiller sırasıyla; *Pseudomonas* türleri (spp.), *Klebsiella* spp., *E.coli* ve *Acinetobacter* spp. olduğu bildirilmektedir (1, 2).

*Pseudomonas aeruginosa* suşları çok çeşitli mekanizmalarla beta-laktam grubu antibiyotiklere direnç geliştirirler. Bu mekanizmalardan biri de karbapenem grubu antibiyotikleri hidrolize eden metallobeta-laktamaz (MBL) enzimi üretimidir.

Son yıllarda, *P.aeruginosa*, *Klebsiella* spp ve *Acinetobacter* spp. gibi hastane kaynaklı etkenlerde karbapenem grubu

antibiyotikleri (imipenem, meropenem, ertapenem) hidrolize eden MBL enzimlerinin farklı ülkelerden ve Türkiye'den bildirilmesi büyük bir endişe yaratmıştır (3-20).

Bu çalışmanın amacı, daha önceden kombine disk (imipenem ve imipenem+EDTA) yöntemi ile MBL enzimi ürettiği saptanan 55 *P. aeruginosa* suşu ile, MBL negatif saptanan 45 suşta, E-test yöntemiyle MBL enzimi varlığının araştırılması ve her iki yöntemin birbirleriyle karşılaştırılmasıdır.

## Gereç ve Yöntemler

Çalışmaya daha önceden kombine disk yöntemiyle MBL pozitifliği saptanan 55 *P.aeruginosa* suşu ile MBL negatif saptanan 45 suş olmak üzere toplam 100 *P.aeruginosa* suşu dahil edildi. Suşlarda MBL varlığı imipenem/ imipenem+ EDTA ( IP/IPI) E-test stripleri (AB Biodisk, Sweden) ile araştırıldı.

Kombine disk yönteminin uygulanması: İmipenem ve imipenem+EDTA kombine disk sinerji testinin uygulanması: 0.5 Mc Farland bulanıklığında hazırlanan bakteri süspansiyonu Mueller-Hinton besiyerine (BBL, USA) yüzeyel olarak ekildi. Besiyerine yüzeyinin kurumasını ta-

kiben aralarında 22 mm mesafe olacak şekilde imipenem (10 µg, Oxoid, UK) ve imipenem EDTA kombine diskleri besiyeri yüzeyine yerleştirildi. Besiyeri 37° C’de bir gece inkübe edildikten sonra ertesi gün değerlendirildi. İmipenem ve imipenem+EDTA içeren kombine diskin inhibisyon zon çapında 7 mm ve üzerinde genişleme saptanması pozitif olarak değerlendirildi (6, 21).

Kontrol suşu olarak Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim dalından temin edilen ve VIM-5 metallobeta-laktamaz ürettiği moleküler yöntemlerle (Polimeraz zincir reaksiyonu) doğrulanmış *P.aeruginosa* suşu kullanıldı.

E-test yönteminin uygulanması: Bu amaçla Mueller Hinton agar (BBL, USA) besiyeri yüzeyine 0.5 Mc Farland bulanıklığında ayarlanmış *P.aeruginosa* suşları süspansiyonu yayılarak üzerine IP/IPI E-test stripleri yerleştirildi.

Besiyerleri Besiyeri 37°C’de bir gece inkübe edildikten sonra ertesi gün değerlendirildi. Minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerinin belirlenmesinde E-test katodu kullanıldı.

**MBL yorumlanması;** IP/ IPI MIC oranının  $\geq 8$  veya  $\geq 3$  log dilüsyon olması MBL üretimi olarak değerlendirildi. Phantom zonu veya elipste deformasyon IP/ IPI oranına bakılmaksızın MBL pozitifliği olarak değerlendirildi. IP/ IPI oranının  $>256/ >64$  veya  $<4/ <1$  olduğunda ise tanımlanamayan olarak değerlendirildi.

## Bulgular

Kombine disk yöntemiyle MBL pozitif saptanan 55 suşun 15’inde (%27.2) E-test ile pozitiflik saptanırken, 35’i (%63.6) negatif, 5’i (%9.09) tanımlanamayan olarak saptandı.

Kombine disk yöntemiyle negatif saptanan 45 suşun 14’ünde (%31) E- test ile pozitiflik bulunurken, 29’u (%64.4) negatif, 2’si (%4.4) tanımlanamayan olarak belirlendi.

Moleküler yöntemlerle VIM-5 metallobeta-laktamaz ürettiği gösterilen kontrol suşunda her iki yöntemle metallobetalaktamaz enzimi varlığı saptandı. Elde edilen sonuçlar Tablo’da gösterildi.

**Tablo:** *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında MBL enzimi taranmasında E-test ve kombine disk yöntemlerinin karşılaştırılması

E-test K.disk*	Pozitif Sayı	Negatif Sayı	Tanımlanamayan Sayı	Toplam
Pozitif (n:55)	15	35	5	55
Negatif (n:45)	14	29	2	45
Toplam (n:100)	29	64	7	100

K.disk\* : Kombine disk yöntemi

## Tartışma

Gram negatif bakteriler, karbapenem grubu antibiyotikleri (imipenem, meropenem) hidrolize eden beta-laktamaz enzimleri sayesinde karbapenem grubu antibiyotiklere direnç geliştirirler. Gram negatif bakterilerde karbapenem grubu antibiyotikleri hidrolize eden iki enzim grubu vardır. Bunlardan biri “serin karbapenamazlar”, diğeri ise “metallobeta-laktamazlar”dır. Serin karbapenamazlar A – D sınıfı arasında değişen enzim türevleri olup, genellikle Enterobacteriaceae ve Acinetobacter türlerinde karbapenem direncine aracılık ederler. Metallobeta-laktamaz (MBL) enzimlerinin aktarımı, tüm beta- laktamaz enzimlerde olduğu gibi kromozom aracılıklı ve transfer edilebilir genlerle olmak üzere ikiye ayrılır. MBL enzimleri Bush sınıflamasına göre grup 3’ te yer almaktadır. Enterobacteriaceae, Acinetobacter türleri, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ve Klebsiella türleri Gram negatif basillerde çok sayıda farklı MBL enzimi tanımlanmıştır. Günümüzde, transfer olabilir tip MBL enzimlerinin üzerinde çalışmış ve bu enzimlerin tüm dünyada hızla yayıldığı bildirilmiştir (3,6).

Son yıllarda dünyada ve Türkiye’de metallobetalaktamaz enzimi üretimine bağlı karbapenem dirençli *P.aeruginosa* suşları bildirilmektedir (3-20, 23).

Metallobeta-laktamaz enzimleri IMP, VIM, SPM ve GIM serisi olmak üzere 4 enzim grubundan oluşur (3,6). Özellikle Akdeniz ülkelerinde VIM serisi enzimlere daha sık rastlanmaktadır. İlk tanımlanan IMP-1 Japonya’da *S.marcescens* suşunda saptanmıştır. Daha sonra İtalya’da *P.aeruginosa* suşlarında integron üzerinde kodlu, transfer edilebilen ikinci bir metallobeta-laktamaz olan VIM-1 tanımlanmıştır. En sık Güney Doğu Asya ve Avrupa’da olmakla birlikte, tüm dünyadan çeşitli ülkelerden MBL enzimi üreten izolatlar bildirilmiştir (3,6,19).

Metallobeta-laktamaz enzimleri; Grup 3 / Klas B betalaktamazlar içinde yer alırlar. Aktif bölgesinde metal iyonları çinko (Zn) içerirler. Klavulanatla inhibe olmazlar.

Metallobeta-laktamaz enzimlerini belirlemek amacıyla çift disk sinerji testi (imipenem veya seftazidim diskleri ve MBL-inhibitörü disklerinin ( EDTA/ veya 2-MPA kombinasyonunu içerir), kombine disk yöntemi (IMP/ EDTA emdirilmiş IMP diskini içerir) ve E-test yöntemi (bir ucunda IMP diğer ucunda ise IMP+EDTA içeren stripler kullanılır) tarama testleri olarak kullanılabilir. Testler uygulanırken besiyerindeki çinko (Zn+2) düzeyi önemlidir (3,6). Kombine disk yönteminde imipenem ve İmipenem EDTA zon çapında 7 mm’ den fazla zon farkı görülmesi MBL pozitif olarak değerlendirilir. E-test yönteminde ise; imipenem / imipenem+EDTA oranında 8 kat (3 dilüsyon) MİK düşüşü MBL pozitif olarak kabul edilir (3,6,21).

VIM tipi MBL enzimi Avrupa orjinli olmakla birlikte bugüne kadar beş kıtada 20 ülkeden bildirilmiştir. SPM enzimi Brezilya dışında görülmemekte ve bu ülkede *Pseudomonas* suşlarındaki sıklığı %20'lere kadar çıktığı rapor edilmektedir.

GIM tipi MBL enzimi ise Almanya'da sınırlı kalmıştır (3,6,7).

Türkiye'de Bahar ve ark. (18) karbapeneme dirençli bir *P.aeruginosa* suşunda, Aktaş ve ark. (23) karbapeneme dirençli bir *Klebsiella pneumoniae* suşunda moleküler yöntemlerle VIM-5 serisi MBL enzimi bildirilmiştir.

Moleküler yöntemler dışındaki yöntemlerle MBL pozitifliğini bildiren çeşitli çalışmalar mevcuttur (17,19,20).

Toraman ve ark. 52 *P.aeruginosa* suşunun 14'ünde (%29), 24 *Acinetobacter baumani* suşunun 5'inde (%21) ve iki *Klebsiella* suşunun 2'sinde imipenem ve imipenem+EDTA E-test yöntemiyle MBL enzimi pozitifliği bildirilmişlerdir.

Bayraktar ve ark. (19) yoğun bakım ünitesinden izole edilen 27 *P.aeruginosa* suşunun 17'sinde (%62.9) IP/ IPI (IP-EDTA) E-testleri ile MBL pozitifliği bildirmişlerdir.

Limoncu ve ark. (20) 38 *P.aeruginosa* suşunun 12'sinde (%32), 17 *Acinetobacter* kökeninin ise 5'inde (%29) MBL varlığı saptanmıştır.

Metallobeta-laktamaz enzimi saptanmasında farklı yöntemlerin karşılaştırıldığı az sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmalardan birinde Lee ve ark. (24) Kore'de yaptıkları çalışmada 1234 karbapenem dirençli *Pseudomonas* spp. ve *Acinetobacter* spp. suşunun 211'inde imipenem EDTA-sodyum merkaptasetik asit çift disk sinerji testi ve E-test yöntemiyle metallobeta-laktamaz varlığı saptamışlar, bu suşların 204 (%96)'ünde moleküler yöntemlerle bla IMP-1 veya blaVIM-2 serisi aleli taşıdıkları bildirilmiştir.

Yong ve ark. (25) çoğunluğu VIM-2 MBL üreten 102 *P.aeruginosa* ve 20 *Acinetobacter baumannii* ve 3 *Acinetobacter* spp. ile yaptıkları çalışmada imipenem ve imipenem EDTA kombine disk yönteminin *P.aeruginosa* suşları için mükemmel, *Acinetobacter* spp. içinse iyi sonuç verdiğini rapor etmişlerdir.

Walsh ve ark. (21) IP ve IP-EDTA E- testlerinin MBL enzimi saptama duyarlılığını %94, özgüllüğünü %95 olarak bildirmişlerdir.

Aktaş ve ark. (26) karbapeneme dirençli *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* suşlarında MBL varlığını EDTA sinerji tarama yöntemleri, E-test ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemleriyle araştırmışlardır. Bu çalışmada, E-test yöntemiyle MBL pozitif saptanan

suşların hiçbirinde PZR yöntemiyle IMP/ VIM enzimlerini kodlayan gen bölgesi veya imipenemaz aktivitesiyle ilişkili bir gen saptanmamıştır. Bu çalışmada, 0.5 M EDTA içeren disk sinerji testiyle izolatların %63.6-100'ünün, 0.1 M EDTA içerenle ise % 0-7.7'sinde MBL ürettiği saptanmıştır. Bu sebeple, MBL taranmasında yanlış pozitif sonuçlarla karşılaşmamak için; 0.1 M EDTA içeren EDTA sinerji testinin daha kabul edilebilir olduğunu bildirmişlerdir.

Özgümüş ve ark. (27) yaptıkları çalışmalarında moleküler yöntemlerle 100 *P.aeruginosa* suşunun 1'inde VIM tipi, 9'unda (%9) IMP-1 tipi metallobeta-laktamaz geni bla (IMP-1) ve bla (VIM)] taşıdıklarını PZR yöntemiyle saptamışlardır. Aynı çalışmada, IMP-1 tipi MBL enzimi saptananların sadece 4'ünde (%44.4) E-test yöntemiyle MBL enzimi belirlenmiştir.

Behera ve ark.(28) Hindistan'da yaptıkları çalışmada, imipenem dirençli 56 izolatın 48'inde kombine disk yöntemiyle, 36'sında ise çift disk sinerji testiyle MBL pozitifliği saptamışlardır. Metallobetalaktamaz enzimi üretimini doğrulamak için 30 izolata MBL E-test uygulanmıştır. Toplam 30 izolatın tümünde MBL pozitifliği E-test yöntemiyle doğrulanmıştır. Çalışma sonucunda imipenem-EDTA kombine disk testinin, MBL enzimini saptamada MBL E-testte eşit etkinlikte olduğu, ancak; maliyetinin düşük olması nedeniyle rutin mikrobiyoloji laboratuvarında konvansiyonel tarama yöntemi olarak kullanılabilirliği bildirilmiştir.

Çalışmamızda altın standart olan moleküler yöntemleri kullanma imkanımız olmadığı için gerek kombine disk yöntemi, gerekse E-test yönteminin MBL enzimini taramada duyarlılık ve özgüllüklerini belirleme imkanımız olmamıştır. Ancak, her iki test arasındaki uyumsuzluğun dikkat çekici olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, *P.aeruginosa* suşlarında MBL enziminin araştırılmasında kombine disk yöntemi ile E-test yöntemi arasında korelasyon görülmemiştir.

Bu nedenle, *P. aeruginosa* suşlarında, fenotipik yöntemlerle (kombine disk, E-test yöntemleri) MBL varlığı saptandığında, yöntemler moleküler yöntemlerle (PZR) de doğrulanması ve her iki yöntemin altın standart olan moleküler yöntemler esas alınarak birbirleriyle değerlendirilmesi sonucunda testlerin performansının daha iyi yorumlanabileceği görüşüdeyiz.

## Kaynaklar

- Öncül O. Hastane kökenli gram negatif çomaklarda direnç. XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabında, 2004; s:94-6.
- Gür D, Ünal S ve ark. Yoğun bakım ünitelerinde izole edilen gram negatif bakterilerin çeşitli antibiyotiklere in vitro duyarlılıkları. Flora Dergisi 1996;1:153-9.

## Pseudomonas aeruginosa Suşlarında Metallobeta-laktamaz Enziminin Taranmasında İki Farklı Yöntemin (Kombine Disk ve E-Test) Karşılaştırılması

3. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? Clin Microbiol Rev. 2005 ;18: 306-25. Review.
4. Giske CG, Libisch B, Colinson C, et al. Establishing clonal relationships between VIM-1-like metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa strains from four European countries by multilocus sequence typing. J Clin Microbiol. 2006 ;44 : 4309-15.
5. Nouer SA, Nucci M, Oliveira MP, et al. Risk factors for acquisition of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa producing SPM metallo-beta-lactamase. Antimicrob Agents Chemother. 2005 ;49:3663-7.
6. Bal Ç. Metallo Beta laktamazlar ve Klinik Önemi. XII.TÜRK Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kongre Kitabında. Antalya; 2005:146.
7. Yong D, Choi YS, Roh KH, et al. Increasing prevalence and diversity of metallo-beta-lactamases in Pseudomonas spp., Acinetobacter spp., and Enterobacteriaceae from Korea. Antimicrob Agents Chemother. 2006 May;50(5):1884-6.
8. Bellais S, Mimoz O, Leotard S, et al. Efficacy of  $\beta$ -lactams for treating experimentally induced pneumonia due to a carbapenem hydrolyzing metallo- $\beta$ -lactamase-producing strains of Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother. 2002 ;46(6):2032-4.
9. Fiett J, Batraniak A, Mrowka A, et al. Molecular epidemiology of acquired metallo- $\beta$ -lactamase producing bacteria in Poland. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2006; 50:880-6.
10. Sanchez A, Salso S, Culebras E, Picazo JJ. Carbapenem resistance determined by metalloenzymes in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. Rev. Esp Quimioter ; 2004; 17:336-40.
11. Gupta V, Datta P, Chander J. Prevalence of metallo-beta lactamase (MBL) producing Pseudomonas spp. and Acinetobacter spp. in a tertiary care hospital in India. J Infect. 2006 May;52(5):311-4.
12. Lagatolla C, Tonin EA, Monti-Bragadin C, et al. Endemic carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa with acquired metallo-beta-lactamase determinants in European hospital. Emerg Infect Dis. 2004; 10:535-8.
13. Laupland KB, Parkins MD, Church DL, et al. Population-based epidemiological study of infections caused by carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa in the Calgary Health Region: importance of metallo-beta-lactamase (MBL)-producing strains. J Infect Dis. 2005;192:1606-12.
14. Lee K, Lee WG, Uh Y, et al. VIM- and IMP-type metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas spp. and Acinetobacter spp. in Korean hospitals. Emerg Infect Dis 2003;9:868.
15. Navaneeth BV, Sridaran D, Sahay D, Belwadi M. A preliminary study on metallo  $\beta$ -lactamase producing Pseudomonas aeruginosa in hospitalized patients. Indian J Med Res 2002; 116: 264-8.
16. Lolans K, Queenan AM, Bush K, et al. First nosocomial outbreak of Pseudomonas aeruginosa producing an integron-borne metallo-beta-lactamase (VIM-2) in the United States. Antimicrob Agents Chemother. 2005 ; 49:3538-40.
17. Toraman ZA, Yakupogulları Y, Kizirgil A. Detection of metallo beta-lactamase production and antibiotic resistance with E-test method in Pseudomonas, Acinetobacter and Klebsiella strains, in Turkey. J Infect Chemother. 2004; 10:257-61.
18. Bahar G, Mazzariol A, Koncan R, et al. Detection of VIM-5 metallo- $\beta$ -lactamase in a Pseudomonas aeruginosa clinical isolate from Turkey. J Antimicrob Chemother. 2004;54:282-3.
19. Bayraktar B, Yıldız D, Bulut E. Yoğun bakım ünitesinden izole edilen karbapenem dirençli Pseudomonas aeruginosa suşlarında metallobetalaktamaz üretiminin araştırılması. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 2004; 34:248-252.
20. Limoncu MH, Ermertcan Ş, Çavuşoğlu C, Eraç B. Hastane enfeksiyonlarından izole edilen Pseudomonas aeruginosa ve Acinetobacter kökenlerinde metallo-beta-laktamaz varlığının araştırılması. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 2006; 36: 79-82.
21. Walsh TR, Bolmstrom A, Qvarnstrom A, Gales A. Evaluation of a new Etest for detecting metallo-beta-lactamases in routine clinical testing. J Clin Microbiol. 2002 ;40:2755-9.
22. E-test katalogu, AB Biodisk, Sweden.
23. Aktas Z, Bal C, Midilli K, et al. First IMP-1-producing Klebsiella pneumoniae isolate in Turkey. Clin Microbiol Infect. 2006 ; 12:695-6.
24. Lee K, Lim YS, Yong D, et al. Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo-beta-lactamase-producing isolates of Pseudomonas spp. and Acinetobacter spp. J Clin Microbiol. 2003 ; 41: 4623-9.
25. Yong D, Lee K, Yum JH, Shin HB, et al. Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo-beta-lactamase-producing clinical isolates of Pseudomonas spp. and Acinetobacter spp. J Clin Microbiol 2002;40:3798-801.
26. Aktaş Z, Kayacan CB. Investigation of metallo-beta-lactamase producing strains of Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii by E-test, disk synergy and PCR. Scand J Infect Dis. 2008; 40:320-5.
27. Ozgumus OB, Caylan R, Tosun I, Sandalli C, Aydın K, Koksall I. Molecular epidemiology of clinical Pseudomonas aeruginosa isolates carrying IMP-1 metallo-beta-lactamase gene in a University Hospital in Turkey. Microb Drug Resist. 2007 ;13:191-8.
28. Behera B, Mathur P, Das A, Kapil A, Sharma V. An evaluation of four different phenotypic techniques for detection of metallo- $\beta$ -lactamase producing Pseudomonas aeruginosa. Indian J Med Microbiol. 2008;26:233-7.

### Teşekkür

Bu çalışma için gerekli malzemelerin temini T.C Sağlık Bakanlığı, Strateji Geliştirme Başkanlığı tarafından proje desteği olarak karşılanmıştır.

Sorumlu Yazar: Doç. Dr. Salih CESUR  
Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği,  
Cebeci/ Ankara- TÜRKİYE

Tel:

E-mail: scesur89@yahoo.com

## Candida: An Update of Distinctive Mycological Properties

### Candida: Belirgin Mikolojik Özellikler Üzerine Bir Güncelleme

Ilknur DAĞ<sup>1</sup>, Yasemin OZ<sup>2</sup>, Nuri KİRAZ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Electron Microscope Laboratory, Eskisehir Osmangazi University, Eskisehir- TURKEY

<sup>2</sup>Department of Microbiology, Division of Mycology, Eskisehir Osmangazi University, Faculty of Medicine, Eskisehir- TURKEY

<sup>3</sup>Department of Microbiology and Clinical Microbiology, Cerrahpasa Medical Faculty, Istanbul University, Istanbul- TURKEY

### Abstract

*Candida species are ubiquitous fungi and are most important fungal pathogens that are known for causing opportunistic infections in immunocompromised hosts. Infections are difficult to treat and can be very serious. Especially, there has been a recent increase in infections due to resistant non-albicans Candida spp., such as C. glabrata and C. krusei. Candida spp. are closely related but differ from each other with respect to epidemiology, virulence characteristics and antifungal susceptibility. Distinction among species facilitates both the understanding of the epidemiology of Candida spp. and management of the antifungal treatment. This review summarizes known mycological properties of Candida by both comparing commonly observed clinical Candida species and emphasizing important differences.*

**Keywords:** Candida; identification; mycological properties.

### Özet

Candida türleri her yerde bol bulunan ve immünkompromize konakçıda fırsatçı enfeksiyonlara yol açtığı bilinen çok önemli fungal patojenlerdir. Oluşturduğu enfeksiyonların tedavisi zordur ve çok ciddi olabilmektedir. Son yıllarda özellikle C. glabrata ve C. krusei gibi C. albicans dışı dirençli türlerin yol açtığı enfeksiyonlarda bir artış görülmektedir. Candida türleri birbirleriyle yakından ilişkilidir ancak epidemiyoloji, virülans karakteristikleri ve antifungal duyarlılık bakımlarından farklılıklar göstermektedirler. Türler arasındaki ayırdedici özelliklerin farkedilmesi hem Candida türlerinin epidemiyolojisinin anlaşılmasını hem de antifungal tedavinin planlanmasını kolaylaştıracaktır. Bu derleme Candida türlerinin bilinen mikolojik özelliklerini, hem yaygın olarak gözlenen klinik Candida türlerini karşılaştırmak hem de önemli farklılıkları vurgulamak yoluyla özetlemeyi amaçlamaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Candida; identifikasyon; mikolojik özellikler.

Opportunistic fungal infections have increased dramatically in recent years. The most important fungal pathogens are yeast species belonging to the genus *Candida* (1, 2, 3, 4, 5). *C. albicans* is the most common *Candida* species isolated from the clinical samples however other species of *Candida* are increasingly being reported (6). *Candida* are also members of the natural microflora of the oral cavity, gastrointestinal tract and vaginal mucosa but it becomes pathogen in situations where the host's resistance is lowered locally or systemically (7, 8). The majority of nosocomial mycoses are also caused by *Candida* (9).

Yeasts that belong to the genus *Candida* are widely spread in the environment . It can be found in human and other mammals, birds, insects, arthropods, fish, animal waste, plants, mushrooms, water and air (10). *Candida* is highly heterogeneous and contains close to 200 species(11). Species identification is very important in the genus because different *Candida* species have variable antifungal susceptibility patterns (12). So, classification to the species level of *Candida* cultured from various clinical specimens is increasingly necessary for clinical laboratories.

Generally *Candida* identification procedures start with a germ tube test in clinical laboratories (13). Germ tube is the beginning of true hyphae and observed by microscopic examination upon inoculation of the strain in serum (14). It is a rapid method to differentiate *C. albicans* and *C. dubliniensis* from other *Candida* species (15). Although it is a rapid test it may lead to false positive and false negative results. When the yeast cannot be identified with this method, further tests such as culturing on cornmeal agar, carbohydrate fermentation and carbohydrate assimilation tests and automated identification procedures are done (16).

For searching the yeasts in clinical samples, the methods such as gram stain, calcofluor white or KOH are used. *Candida* species are gram positive microorganisms. They grow on almost all common laboratory media, however, Sabouraud's agar with and without antibacterial antibiotics is widely used for direct isolation . Some strains of *C. tropicalis*, *C. krusei* and *C. parapsilosis* are susceptible to cycloheximide. Most strains grow well at 37°C or at room temperature (22-25 °C). On Sabouraud's dextrose agar (SDA), colonies are white to cream in colour, S type colony morphology and mature in 3 days (Figure 1). The texture of the colony may be pasty, smooth, glistening or dry, wrinkled and dull, depending on the species (17). Young colonies are white with a soft consistency; the surface and margins of the colonies are smooth, although rough surfaced strains have been described.



**Figure 1-** The general appearance of *Candida* colonies grown on Sabouraud Dextrose Agar.

By observing growth on commercially available chromogenic medium, a presumptive identification of several *Candida* species may be made. Colonies of *C. albicans* appear light to medium green, *C. tropicalis* colonies appear dark blue to metallic-blue, *C. krusei* colonies appear light mauve to mauve, flat colonies with a whitish border, and *C. glabrata* colonies appear light to dark mauve in chromogenic media (18). This medium has proven to be useful for detection of mixed cultures of *Candida* spp. within a single specimen. (19, 20, 21).

Transition of growth to the mycelial stage in the absence of fermentable carbohydrate is another characteristic of genus. *Candida* species can use specific carbohydrates as sole source of carbon in the presence of oxygen. Some of them are fermentative. This characteristics are important for the identification of *Candida* species and for their differentiation from other yeast-like fungi (22).

The microscopic features of *Candida* spp. also show species-related variations. All species produce blastoconidia singly or in small clusters. Blastoconidia may be round or elongate. Most species produce pseudohyphae which may be long, branched or curved. True hyphae and chlamydospores are produced by strains of some *Candida* spp (17, 23). Many investigators have expressed dissatisfaction with these methods of differentiation, because, as different isolates of *Candida* species may exhibit different phenotypical properties, different *Candida* species may also exhibit similar phenotypical properties. For this reason, identification that is made by using only these criteria may be problematic (21).

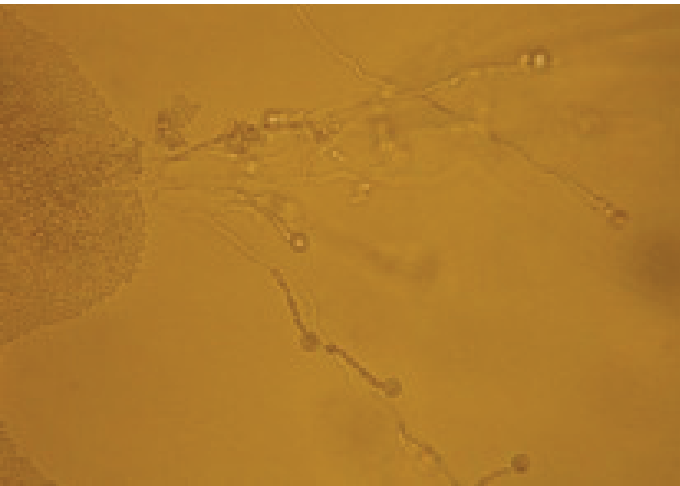
## C. albicans

*C. albicans* which is the main causative agent of candidiasis is the most common medically significant *Candida* species and it has been reported as a causative agent of all types of candidiasis (24, 25). On SDA colonies are white to cream colored, smooth, glabrous, glistening and yeast-like in appearance. On Chromagar, colonies are light to medium green (Figure 2).



**Figure 2-** The appearance of *Candida* species grown on CHROMagar *Candida*.

Microscopic morphology can best be visualized when the test isolate is incubated on Cornmeal-Tween 80 agar (CA) and at 25°C for 72 h. It shows spherical to subspherical budding yeast-like cells, 2.0-7.0 x 3.0-8.5 µm in size. Pseudomycelium present with blastoconidia in dense grape-like arrangement (21, 26). *C. albicans*, together with *C. dubliniensis*, are the two *Candida* spp. which produce a typical asexual spore, chlamydoconidium (27). Chlamydoconidia are round, large, thick-walled and usually terminal (Figure 3).



**Figure 3-** The appearance of *C. albicans* grown on Cornmeal-Tween 80 agar.

*C. albicans* produces no surface growth when inoculated in Sabouraud broth. An interesting feature of *C. albicans* is its ability to grow in two different ways; reproduction by budding, forming an ellipsoid bud, and in hyphal form, which can periodically fragment and give rise to new mycelia, or yeast-like forms (28). Transitions between the two phenotypes can be induced in vitro in response to several environmental cues such as pH or temperature, or different compounds (28). Germ tube production is the other typical characteristic of this species. *C. albicans* germ tubes formed after 2 h in serum at 37°C (Figure 4).



**Figure 4-** *C. albicans* producing germ tubes in serum after 2 hours incubation at 37°C

Occasional small constrictions at the junction of germ tubes and parent yeast cells are not unusual in *C. albicans*, however, pronounced constrictions and many blastospore-germ tube units showing such constrictions may indicate that a yeast isolate is a species other than *C. albicans*. (usually *C. tropicalis*). Similar to the chlamydoconidia production, the two *Candida* spp. that produce germ tube are *C. albicans* and *C. dubliniensis* (29). However, *C. albicans* ferments glucose and maltose more rapidly than other sugars.

## C. dubliniensis

The species occurs in the oral cavity of mostly HIV-positive individuals, and are most frequently implicated in cases of recurrent infection following antifungal drug treatment (30). Phenotypically, isolates are very similar to *C. albicans* in that isolates produce both germ-tubes and chlamydoconidia, however, they have unusual carbohydrate assimilation patterns and grow poorly or not at all at 42°C. On CHROMagar *Candida* medium, *C. albicans*



colonies are light blue-green in colour, while those of *C. dubliniensis* are a much darker green colour. On SDA, colonies are white to cream coloured, smooth, glabrous yeast-like in appearance (and are indistinguishable from those of *C. albicans*). On CA, pseudohyphae with blastoconidia and terminal vesicles (chlamydoconidia) are produced usually in abundance (similar to *C. albicans*). Germ tubes formed with serum (31).

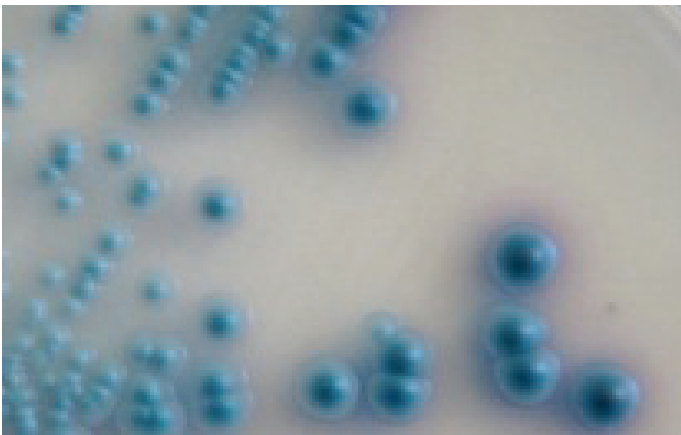
### **C. tropicalis**

The diploid yeast *C. tropicalis* is one of the most frequent non-*albicans* causes of candidemia (32). Unlike *C. albicans*, which is a normal commensal on human mucous membranes, the detection of *C. tropicalis* is more often associated with the development of deep fungal infections (33). On SDA, colonies are cream-colored with a slightly mycelial border (Figure 5).



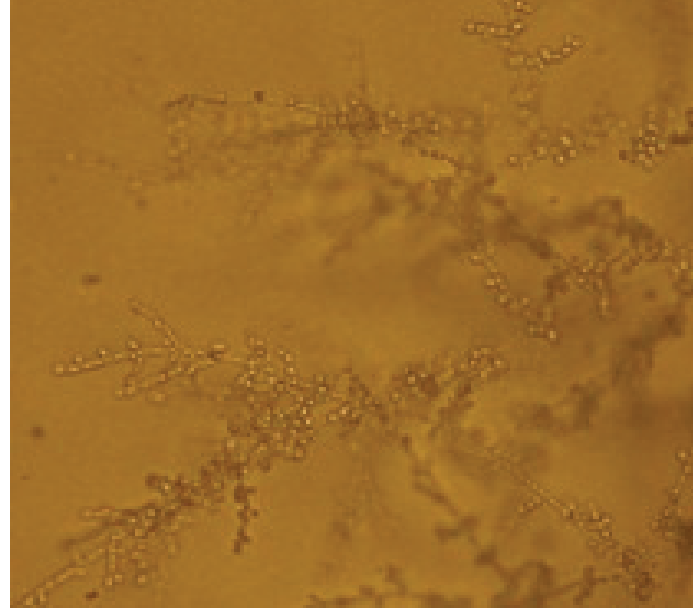
**Figure 5-** The appearance of *C. tropicalis* grown on Sabouraud Dextrose Agar.

On Chromagar, colonies appear dark blue to metallic-blue (Figure 6).



**Figure 6-** Growth of *C. tropicalis* with a blue colour on CHRO-Magar Candida.

It may produce a thin surface film and bubbles when grown in Sabouraud broth. On CA, it produces oval blastospores which are located along the long pseudohyphae. The blastospores may appear singly or in clusters. The pseudohyphae branch abundantly (Figure 7).



**Figure 7-** The microscopic morphology of *C. tropicalis* grown on Cornmeal-Tween 80 agar.

*C. tropicalis* may also produce true hyphae. However, it produces thin-walled chlamydoconidia which resemble those of *C. albicans*. It also undergoes colony morphology switching, like *C. albicans*. These similarities mirror the phylogenetic relationship of these species. *C. tropicalis* forms a closely related taxon with *C. albicans*, *C. dubliniensis*, and *C. parapsilosis* (21).

### **C. krusei**

*C. krusei* is an emerging fungal nosocomial pathogen primarily found in the immunocompromised patients and those with hematological malignancies (34). Intrinsic resistance to fluconazole and decreasing susceptibility to other anti-fungal agents are problematic (35). The flat, relatively dry colony of species, its production of a prominent surface film which extends several millimeters up on the inner surface of a broth tube and the elongated shape of buds produced on agar are characteristics which make identification of the species easy. On SDA, colonies are white to cream colored, smooth, glabrous yeast-like colonies (Figure 8).

On chromagar, *C. krusei* colonies appear light mauve to mauve, flat colonies with a whitish border (Figure 9).

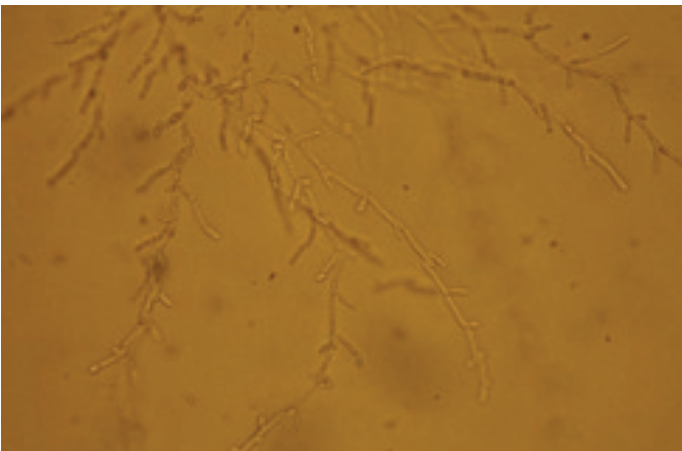


**Figure 8-** The appearance of *C. krusei* grown on Sabouraud Dextrose Agar



**Figure 9-** Growth of *C. krusei* with a pink colour on CHROMagar Candida

On CA, following 72 hours incubation at 25°C, abundant pseudohyphae are formed with some moderate branching; cells liberated and arranged parallel to the main axis (Figure 10).



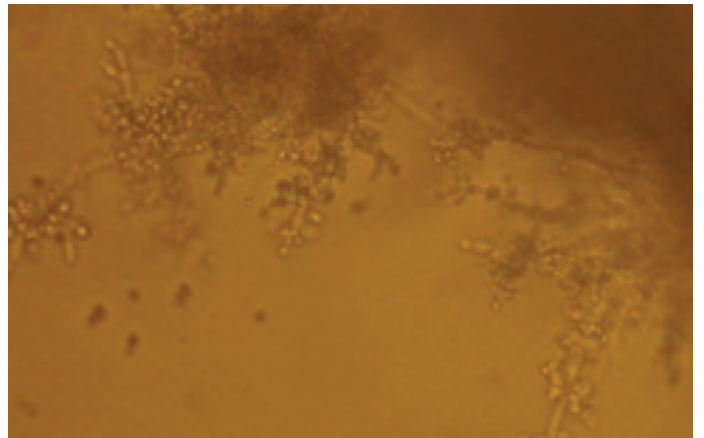
**Figure 10-** The microscopic morphology of *C. krusei* grown on Cornmeal-Tween 80 agar.

This isolate grows at 42°C but fails to grow on media containing cycloheximide. Care should be taken when identi-

fying *C. krusei* as isolates of *C. inconspicua* are morphologically and biochemically similar. These two species are most easily differentiated by the production of pseudohyphae by *C. krusei*. While the majority of the clinical *Candida* species have no urease activity, some origins of this species are urease positive (36). *Issatchenkia orientalis* is teleomorph form of *C. krusei* (20).

### **C. parapsilosis**

*C. parapsilosis* is occasionally involved as an opportunist in systemic mycoses (37). The species forms slimy biofilms on tubing systems and prosthetic materials. On SDA, colonies are white to cream colored, smooth, glabrous and yeast-like in appearance. On CA, pseudomycelium present, mostly abundant, consisting of branched chains of elongate cells in more or less christmastree-like arrangement, lateral branches gradually becoming shorter towards the hyphal apex (Figure 11) (38, 39, 20).



**Figure 11-** The microscopic morphology of *C. parapsilosis* grown on Cornmeal-Tween 80 agar

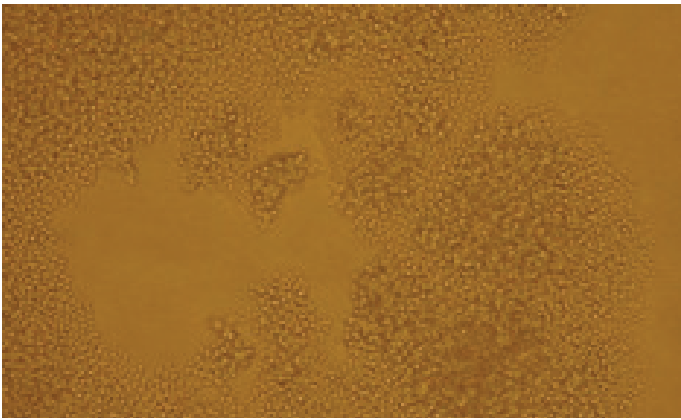
### **C. glabrata**

Until recently, *C. glabrata* was considered a relatively nonpathogenic commensal fungal organism of human mucosal tissues. However, following the widespread and increased use of immunosuppressive therapy together with broad-spectrum antimycotic therapy, the frequency of mucosal and systemic infections caused by *C. glabrata* has increased significantly (40). A major obstacle in *C. glabrata* infections is their innate resistance to azole antimycotic therapy, which is very effective in treating infections caused by other *Candida* species (41). On SDA, colonies are white to cream colored, smooth and glabrous yeast-like in appearance. *C. glabrata* colonies appear light to dark mauve in chromagar (Figure 12). Microscopic morphology shows numerous ovoid, budding yeast-like cells or blastoconidia, 2.0-4.0 x 3.0-5.5 µm in size (Figure 13). *C. glabrata* is the only *Candida* species that does not form

pseudohyphae at temperatures above 37°C. A critical distinguishing characteristic of *C. glabrata* is its haploid genome, in contrast to the diploid genome of *C. albicans*. While *C. glabrata* rapidly metabolizes trehalose, but not maltose (36).



**Figure 12-** The appearance of *C. glabrata* grown on CHRO-Magar Candida (pink colonies).



**Figure 13-** The microscopic morphology of *C. glabrata* growth on Cornmeal-Tween 80 agar.

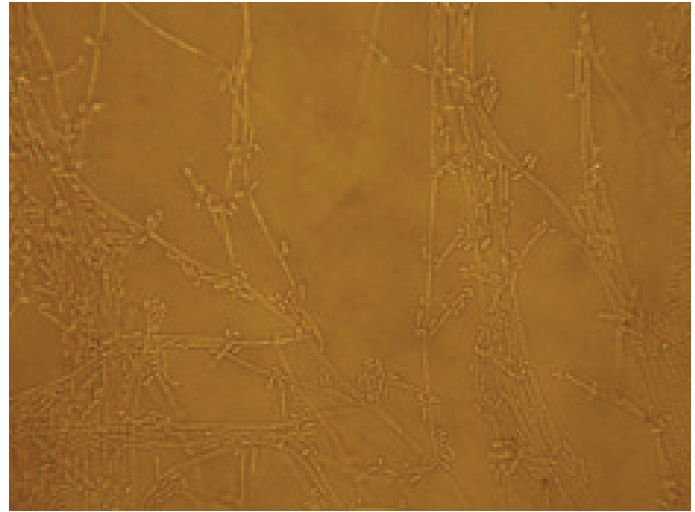
### **C. guilliermondii**

*C. guilliermondii* is occasionally involved in cutaneous or subcutaneous infections, systemic infections are rare (42). Like *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii* is haploid and has retained a complete sexual cycle including meiosis and sporulation. On SDA, colonies are cream to pinkish colored, smooth, glabrous and yeast-like in appearance. Microscopic morphology shows spherical to broadly ellipsoidal budding yeast-like cells, 2.0-4.0 x 3.0-6.5 µm. Pseudomycelium may be present, radiating from the centre of masses of budding cells; hyphae not produced. Its teleomorph is *Pichia guilliermondii* (26).

### **C. kefyri**

*C. kefyri* is an opportunistic species that occasionally causes human disease and has been isolated from nails and

pulmonary specimens (43). Environmental isolations have been made from cheese and dairy products (44). On SDA, colonies are white to cream colored, smooth, glabrous and yeast-like in appearance. Microscopic morphology shows budding cells ellipsoidal to cylindrical, 6-10 x 3-6 µm. Hyphae absent; pseudomycelium mostly present, fragile, emerging in a volcano-shaped arrangement with parallel cells (Figure 14). Teleomorph form of this species is *Kluyveromyces marxianus* (20, 39).



**Figure 14-** The microscopic morphology of *C. kefyri* grown on Cornmeal-Tween 80 agar.

### **C. viswanathii**

*C. viswanathii* is isolated from spinal fluid and sputum. Colonies are white to cream-colored, smooth, moist in SDA. On CA, budding cells obovoidal to ellipsoidal, 4-12 x 2.5-7.0 µm; pseudomycelium present, poorly branched, bearing few- obovoidal conidia with truncate scars (20, 39).

### **C. lusitaniae**

*C. lusitaniae* has been isolated from several cases of disseminated candidiasis, including septicemia and pyelonephritis (45). It has also been reported to colonize the human respiratory, gastrointestinal and urinary tracts. Despite its low prevalence, *C. lusitaniae* poses unique therapeutic challenges as strains resistant to amphotericin B are frequently isolated from patients. Resistance of strains to azole drugs has also been reported. On SDA, colonies are white to cream colored, glistening, soft and smooth. On CA, well-developed pseudomycelium with short chains of blastoconidia often present, strongly flexuose, growing down into the medium. *C. lusitaniae* may also be difficult to distinguish from *C. tropicalis* using some yeast identification systems. This species' teleomorph form is *Clavispora lusitaniae* (17).

### C. norvegensis

*Candida norvegensis* has been an unusual cause of peritonitis and disseminated candidiasis in humans (46). On SDA, colonies are white to cream colored, smooth, glabrous and yeast-like in appearance. Microscopic morphology shows numerous ovoid, budding yeast-like cells or blastoconidia, 2.0-3.5 x 3.5-5.0 µm in size. No pseudohyphae produced (Figure 15). *Pichia norvegensis* is a teleomorph form of *C. norvegensis* (20, 39).



**Figure 15-** The microscopic morphology of *C. norvegensis* grown on Cornmeal-Tween 80 agar.

### C. haemulonii

On SDA, colonies are white to cream colored, smooth, glabrous and yeast-like in appearance. Microscopic morphology shows numerous ovoid to globose, budding yeast-like cells or blastoconidia, 3.0-5.0 x 3.0-6.5 µm in size. Pseudohyphae absent or fragmentary pseudohyphae composed of clavate cells present (26). *C. haemulonii* has been reported from a few cases of fungemia but clinical isolations remain rare (47). It has also been isolated from fish and a dolphin. Distinguishable of *C. haemulonii* may be difficult from *C. famata*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis* using some commercial yeast identification systems due to data base limitations (20, 39).

### C. colliculosa

Colonies (SDA) are white to cream-coloured smooth, glabrous yeast-like in appearance. In microscopic morphology, spherical to ellipsoidal budding blastoconidia, 2-6 x 3-7 µm in size. Ascospores may be produced on 5% malt extract or cornmeal agar after 5-30 days at 25°C. No pseudohyphae or true hyphae produced (20, 39).

### C. famata

This species is an emerging pathogen that has been reported to have decreased susceptibility to amphotericin B (48). On SDA, colonies are white to cream colored, smooth, glabrous yeast-like in appearance. Microscopic morphology shows numerous ovoid, budding yeast-like cells or blastoconidia, 2.0-3.5 x 3.5-5.0 µm in size. No pseudohyphae produced. *C. famata* is a common environmental isolate, however it is only rarely recovered from clinical specimens, usually associated with skin. Its teleomorph form is *Debaryomyces hansenii* (26).

In summary, the increasing prevalence of candidal infections highlights the need for simple and rapid methods in microbiological laboratories. Correct identification of *Candida* to the species level has a great importance for the clinician in determining the correct antifungal agent. Since phenotypic properties are not sufficient alone, combination of several methods may be useful for identification of *Candida*.

**Acknowledgements:** All photographs were taken in Eskişehir Osmangazi University, Medical faculty, Mycology Laboratory.

### References

1. Souza P, Storti-Filho A, Souza R et al. Prevalence of *Candida* spp. in the cervical-vaginal cytology stained by Haris-Shorr. In: Arch-Gynecol. Obstet. 2009; 279: 625-9.
2. Anane S, Kallel K., Kaouech E, Belhaj S and Chaker F. *Candida dubliniensis*: a novel emerging species, Ann. Biol. Clin. 2007; 65:13-9.
3. Pfaller MA, and Diekema DJ. Rare and emerging opportunistic fungal pathogens: concern for resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. J. Clin. Microbiol. 2004; 42:4419-31.
4. Neppelenbroek KH, Campanha NH, Spolidorio DM. Molecular fingerprinting methods for discrimination between *C. albicans* and *C. dubliniensis*. Oral Dis 2005;12:242-53.
5. Shokohi T, Hashemi, Soteh MB, Saltanat Pouri Z, Hedayati MT, Mayahi S. Identification of *Candida* species using PCR-RFLP in cancer patients in Iran. Indian J. Med. Microbiol. 2010; 28: 147-51.
6. Wilson DA, Joyce MJ, Hall LS et al. Multicenter evaluation of a *Candida albicans* peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization probe for characterization of yeast isolates from blood cultures. J. Clin. Microbiol. 2005; 43:2909-12.
7. Ruiz-Sanchez D, Calderon-Romero L, Sanchez-Vega JT, Tay J. Intestinal candidiasis. A clinical report and comments about this opportunistic pathology. Mycopathologia. 2002; 156: 9-11.
8. Pinjon E, Moran GP, Coleman DC, Sullivan DJ. Azole suscepti-

- bility and resistance in *Candida dubliniensis*. *Biochem. Soc. Trans.* 2005;33:1210-14.
9. Tulumoğlu Ş, Karıptaş E, Erdem B. Identification and antifungal susceptibility of *Candida* isolates from various clinical specimens in Doctor Behçet Uz Hospital. *Anatol. J. Clin. Investig.* 2009; 3:170-3.
10. Akortha EE, Nwaugo VO, Chikwe NO. Antifungal resistance among *Candida* species from patients with genitourinary tract infection isolated in Benin City, Edo state, Nigeria. *Afr. J. Microbiol. Res.* 2009; 3:694-9.
11. Su C, Meyer SA. Characterization of mitochondrial DNA in various *Candida* species: isolation, restriction endonuclease reaction, size and base composition. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1991; 41:6-14.
12. Seyer A, Yaman M, Khalil I, et al.. The evaluation of the morphology of *Candida* species on different agar plates. *Turkish Microbiological Society.* 2009; 39: 69-72.
13. Dealler, SF. *Candida albicans* colony identification in 5 minutes in a general microbiology laboratory. *J. Clin. Microbiol.* 1991; 29:1081-2.
14. Park BG, Lee MK. Appropriate condition of Germ tube formation as presumptive identification test for *Candida albicans*. *Korean J. Med. Mycol.* 2008; 13: 20-5.
15. Baradkar VP, Mathur M, Kumar S. Hichrom candida agar for identification of *Candida* species. *Indian J. Pathol. Microbiol.* 2010; 53:93-5.
16. Yucesoy M, Esen N, Yulug N. Use of chromogenic tube and methyl blue-sabouraud agar for the identification of *Candida albicans* strains. *Kobe J. Med. Sci.* 2001; 47: 161-7.
17. Larone, DH. *Medically important fungi: a guide to identification*, 4th ed., ASM Press, Washington, D.C; 2002.
18. Pfaller MA, Houston A, Coffmann S. Application of CHROMagar *Candida* for rapid screening of clinical specimens for *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* and *Candida (Torulopsis) glabrata*. *J. Clin. Microbiol.* 1996; 34: 58-61.
19. Hospenthal DR, Murray CK, Beckius ML, Green JA, Dooley DP. Persistence of pigment production by yeast isolates grown on CHROMagar *Candida media*. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40: 4768-70.
20. Rippon, JW. *Candidiasis and the pathogenic yeasts*. In: JW. Rippon (ed), *Med Mycol*, PA, , pp 532-81. 1988.
21. Calderone, RA.. *Candida and candidiasis*. ASM Press, Washington D.C; 2002.
22. Momani OM. Cost-effectiveness and efficacy of CHROMagar *Candida* medium in clinical specimens. *J. East Mediterr. Health* 2000; 6:968-78.
23. Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect. Dis.* 2003; 3:685-702.
24. Zarrin M, Jamshidian M, Jafari M.. In vitro interactions of micozazole with sulfametoazole against *Candida* species. *Pak J Med Sci.* 2009; 25: 243-6.
25. Uppuluri P, Chaturvedi AK, Srinivasan A, et al. Dispersion as an important step in the *Candida albicans* biofilm developmental cycle. *PLoS Pathog.* 2010; 3:6:e1000828.
26. Hoog, GS, Guarro, J, Gene J, Figueras MJ. *Atlas of clinical fungi*, 2nd ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures / Universitat Rovia i Virgili, Utrecht, The Netherlands; 2000.
27. Hazen KC, Howell SA. *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeasts of medical importance. In PR Murray et al. (ed.) *Manual of Clinical Microbiology*. Ch. 114. 8th ed. ASM Press. Washington, DC. 2003. p. 1693-711.
28. Molero G, Díez-Orejas R, Navarro-García F et al. *Candida albicans*: genetics, dimorphism and pathogenicity. *Internatl. Microbiol.* 1988. 1: 95-106.
29. Selvarangan R, Limaye AP, Cookson BT. Rapid identification and differentiation of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* by capillary-based amplification and fluorescent probe hybridization. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40: 4308-12.
30. Coleman D, Sullivan D, Harrington B et al. Molecular and phenotypic analysis of *Candida dubliniensis*: a recently identified species linked with oral candidosis in HIV-infected and AIDS patients. *Oral Dis.* 1997; 1:96-101.
31. Sullivan D, Coleman D. Minireview. *Candida dubliniensis*: characteristics and identification. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36:329-34.
32. Nucci M, Colombo AL. Candidemia due to *Candida tropicalis*: clinical, epidemiologic and microbiologic characteristics of 188 episodes occurring in tertiary care hospitals. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2007; 58: 77-82.
33. Zaugg C, M. Zepelin B, Reichard D, Sanglard D, Monod M. Secreted aspartic proteinase family of *Candida tropicalis*. *Infect. Immun.* 2001; 69:405-12.
34. Jonathan, L, Hager MD, Mohsin R, Mir MD, Sylvia Hsu MD. *Candida krusei* fungemia in an immunocompromised patient. *Dermatology Online Journal.* 2010; 16 (4): 5.
35. Samaranyake LP. *Candida krusei* infections and fluconazole therapy. *Hong Kong Med. J.* 1997; 3: 312-4.
36. Murray, PR., Baron, EJ, Jorgensen, JH., Landry, ML, Pfaller, MA. *Manual of clinical microbiology*, 9th ed. ASM Press, Washington, DC. 2007.
37. Pfaller MA, Diekema DJ. Twelve years of fluconazole in clinical practice: global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of *Candida*. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004; 10:11-23.



38. Trofa D, Gacser A, Nosanchuk JD. *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21: 606-25.
39. Kreger-Van Rij, NJW. *The Yeasts: a taxonomic study*. 3rd Edition. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, The Netherlands; 1984.
40. Macêdo DPC, Silva VKA, Farias AMA, Melo LRB, Wilhelm AB, Neves RP. *Candida glabrata* esophagitis: new case reports and management. *Braz. J. Microbiol.* 2008; 39:1-7.
41. Fidel PL, Vazquez JA, Sobel JD. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clin. Microbiol. Rev.* 1999; 12:80-96.
42. Pfaller MA, Diekema DJ, Mendez M, et al. *Candida guilliermondii*, an opportunistic fungal pathogen with decreased susceptibility to fluconazole: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK antifungal surveillance program. *J Clin Microbiol.*; 2006; 44: 3551-6.
43. Johnson EM. Rare and emerging *Candida* species. *Clin. Fungal. Infect. Reports* 2009; 3:152-9.
44. Tsang PW, Wong K, Chu JK. Isolation and characterization of *Candida kefyr* orotidine-5\_-phosphate decarboxylase (URA3) gene. *Yeast* 2010; 27: 53-8.
45. Hawkins JL, Baddour LM. *Candida lusitanae* infections in the era of fluconazole availability. *Clin Infect Dis.* 2003; 15;36(2):14-8.
46. Sandven P, Nilsen K, Digranes A, Tjade T, Lassen J. *Candida norvegensis*: a Fluconazole-Resistant Species. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1997; 41: 1375-6.
47. Khan, ZU, Al Sweih NA, Ahmad S, et al. Outbreak of fungemia among neonates caused by *Candida haemulonii* resistant to amphotericin B, itraconazole, and fluconazole. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45:2025-7.
48. Diekema, DJ, Messer SA, Boyken LB, et al. In vitro activity of seven systemically active antifungal agents against a large global collection of rare *Candida* species as determined by CLSI broth microdilution methods. *J. Clin. Microbiol.*2009; 47:3170-7.

Corresponding Author: Ilknur Dag  
Eskisehir Osmangazi University  
Electron Microscope Laboratory  
Eskisehir-TURKEY  
Phone: +90 222 239 37 50-13 63  
E-mail: idag280@gmail.com

## Asymptomatic Tracheal Fistula to Adjacent Soft Tissue Secondary to Blunt Trauma

### Künt Travmaya Sekonder Trakeadan Komşu Yumuşak Dokuya Uzanan Asemptomatik Fistül

Nurdan CAY<sup>1</sup>, Karabekir ERCAN<sup>2</sup>, Meral ARİFOĞLU<sup>2</sup>, Muharrem TOLA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Radiology, Yüksek İhtisas Education and Research Hospital, Ankara- TURKEY

<sup>2</sup>Department of Radiology, Atatürk Education and Research Hospital, Ankara- TURKEY

#### Abstract

**Aim:** Fistula formation between the trachea and adjacent structures such as esophagus, skin (cutaneous), and vascular tissue have been previously well described. Their diagnosis, treatment modalities, and short- and long-term prognosis have also been largely discussed. These pathological connections have been generally due to tracheal cannulations (iatrogenic), malignancies, vascular aneurysms, and blunt or penetrating trauma. Tracheal fistula formation to adjacent soft tissue is a very rarely seen condition. For diagnosis and planning treatment strategies, CT scanning of the neck might be the first choice, especially in trauma patients. Herein, we describe a male patient with such fistula formation and discuss its radiological diagnosis.

**Keywords:** Fistula; rare; trachea.

#### Özet

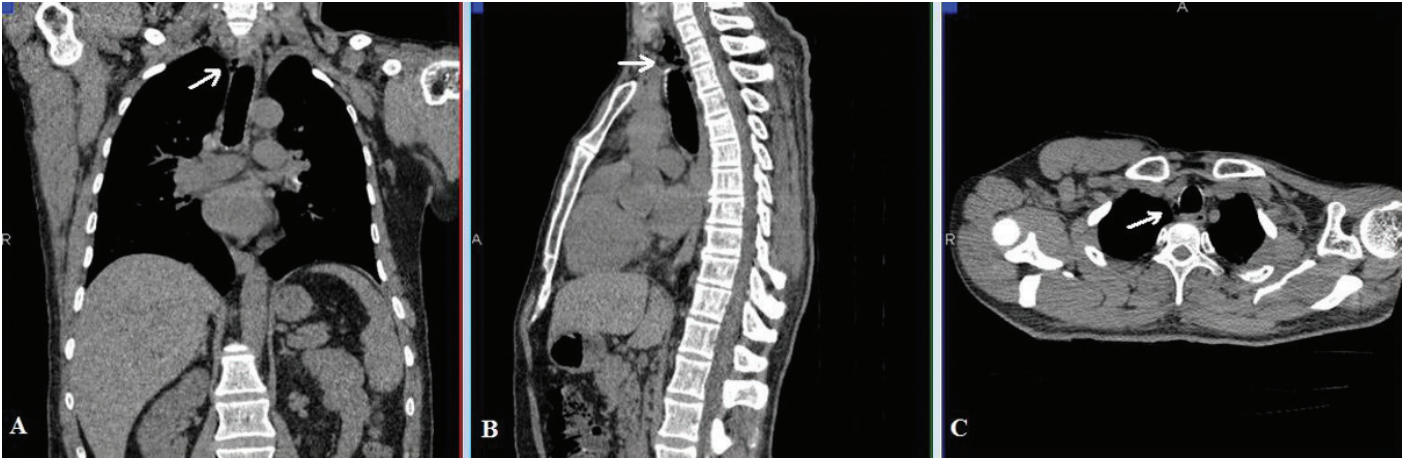
**Amaç:** Trakea ile özefagus, cilt (kutenöz) ve vasküler dokular gibi komşu yapılar arasındaki fistül oluşumu daha önce de iyi tanımlanmış bir durumdur. Bu fistüllerin tanıları, tedavi yöntemleri ve kısa ve uzun vadeli prognozları da büyük ölçüde ele alınmıştır. Bu patolojik bağlantılar genellikle trakeal kanülasyonlar (iyatrojenik), maligniteler, damar anevrizmaları, ve künt veya penetran travma nedeniyle meydana gelmektedir. Komşu yumuşak dokuya trakeal fistül oluşumu çok nadir görülen bir durumdur. Tanı ve tedavi planlama stratejileri için, boyun bölgesinin BT taraması özellikle travma hastalarında ilk seçenek olabilir. Burada, buna benzer fistül oluşumlu bir erkek hastayı sunduk ve radyolojik tanısını tartıştık.

**Anahtar kelimeler:** Fistül; nadir; trakea.

#### Case report

A 32 year old male patient was admitted to the emergency department with chest pain after a blunt trauma because of car accident. The event had occurred 2 hours before admission. No other complaint including dyspnea was declared

by patient. Vital signs were stable. His physical examination was unremarkable. Afterward, a computed tomography of the chest was performed (Emotion Dou, Siemens, Germany). During examination, no pathology other than air filled area adjacent to trachea at the first slice was observed (Figure).



**Figure:** Air-filled area is seen adjacent to the trachea in coronal (A), sagittal (B) and transverse (C) planes (white arrows)

## Discussion

Trauma to the neck either blunt or penetrating might be result in laceration or rupture of the corresponding organ-tissues. In case of vascular lacerations, bleeding complications such as hematoma or fistulous complications might be seen. Trauma to the trachea has been relatively less encountered. Most of these fistulae have occurred between the trachea and adjacent tissues such as esophagus, skin, and vessels (1, 2, 3). Much of tracheal lacerations are due to tracheal cannulation (iatrogenic) that results in fistula formation especially in long-term follow-up (4). However, fistula formation localized to adjacent soft tissue is very rare. In diagnosis, some conventional and new diagnostic radiological modalities can be performed. Use of ultrasonography in diagnosis of tracheal pathologies is limited. Because the structures situated in the sonographic acoustic shadow: behind bones, calcified cartilages, stones, and behind organs containing gas such as trachea can not be visualized. Although conventional bronchoscopy and contrast radiodiagnostic study are the gold standard methods for diagnosis of tracheal pathologies such as fistulae, newer and developing radiological tools such as computed tomography has been increasingly used (5). Recent advances including the advent of high-speed, helical scanners as well as software development have allowed further anatomical and tissue characterization of the inspected region. In addition, CT imaging might help in planning subsequent interventions. Therefore, CT scanning might be the first choice in diagnosis of tracheal pathologies. In addition, the use of advanced CT technologies as in three-dimensional CT can further help in diagnosis of much more complicated and difficult malformations (6).

## References

1. Chappell VL, Heck HA Jr. Repair of large, iatrogenic, tracheo-esophageal fistulae. *Ann Thorac Surg* 2007;83:705-6.
2. Priestley JD, Berkowitz RG. Closure of tracheocutaneous fistula in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2006;70:1357-9.
3. Raghavendran K, Cherr GS, Ford PF, Burkhard PG, Bell-Thomson J. Successful management of concomitant aorto-esophageal and aortotracheal fistulae secondary to a thoracic aortic aneurysm: case report and review of literature. *J Vasc Surg* 2005;42:1218-20.
4. Reed MF, Mathisen DJ. Tracheoesophageal fistula. *Chest Surg Clin N Am* 2003;13:271-89.
5. Lam WW, Tam PK, Chan FL, Chan KL, Cheng W. Esophageal atresia and tracheal stenosis: use of three-dimensional CT and virtual bronchoscopy in neonates, infants, and children. *AJR Am J Roentgenol* 2000;174:1009-12.
6. Yedururi S, Guillerman RP, Chung T, Braverman RM, Dishop MK, Giannoni CM, Krishnamurthy R. Multimodality imaging of tracheo-bronchial disorders in children. *Radiographics* 2008;28:e29.

Address for correspondence: Nurdan Cay, M.D.

Yasamkent Mah. 3222. Cad.

2. Blok (Yakut) No: 37 D: 27

Cayyolu/ Ankara- TURKEY

Phone: +90 312 217 38 62

E-mail: nurdancay@yahoo.com



## Retrofarengeal ve Retrosternal Uzanım Gösteren Dev Multinodüler Guatr

### *Huge Multinodular Goiter With Retropharyngeal and Retrosternal Extention*

Bige SAYIN, Nilgün YILDIRIM, Perihan SOYDİNÇ, Erdoğan AKTAŞ, Doğan DEDE

Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 4. Radyoloji Kliniği, Ankara- TÜRKİYE

### Özet

**Amaç:** Guatr, tiroid glandının neoplazm nedeniyle olmayan, ağrısız ve kronik büyümesidir. Diffüz ya da nodüler olabilir. Tiroid glandı sıklıkla inferiora doğru büyür ve retrosternal uzanım gösterebilir. Tiroid glandının superolaterale doğru büyüyerek retrofarengeal boşluğu doldurması ve retrofarengeal kitle bulgusu ile karşımıza çıkması oldukça nadir görülür.

Burada; hem inferiora hem de superolaterale doğru büyüyerek retrosternal ve retrofarengeal uzanım gösteren büyük boyutlardaki multinodüler guatr olgusunun, konvansiyonel radyografi ve bilgisayarlı tomografi bulguları sunulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Guatr; retrofarengeal kitle; bilgisayarlı tomografi.

### Abstract

**Aim:** Goiter is a term that describes a painless, nonneoplastic, chronic enlargement of the thyroid gland. It occurs diffuse or nodular. Goiter usually extends to inferior and may also extend retrosternally towards to the mediastinum. Rarely the goiter grows towards to the retropharyngeal space superiorly; to present clinically a retropharyngeal mass.

Herein, we presented X-ray and computed tomography findings of a patient with huge multinodular goiter which extends retropharyngeally and retrosternally.

**Keywords:** Goiter; retropharyngeal mass; computed tomography.

### Giriş

Guatr tiroid bezinin endemik ya da sporadik nedenlerle olan kronik ve nonneoplastik büyümesidir. Guatr; parankim tutulumuna göre diffüz veya nodüler, salgı fonksiyonuna göre hipotiroid, hipertiroid veya ötiroid, yaygınlık derecesine göre sporadik veya endemik olarak sınıflandırılır. En sık etiyolojik faktörler iyot eksikliği, guatrojenler, Hashimoto hastalığı, tiroid hormon sentezinde bozuk-

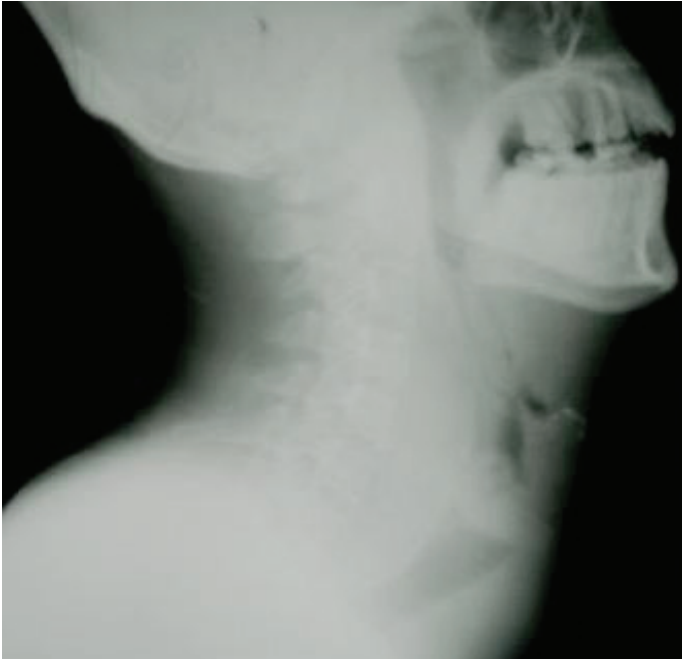
luk, Graves hastalığı, akut/subakut tiroidit ve tiroid hormon direnci olarak sayılabilir. Guatr ötiroid olgularda sıklıkla tiroid bezinin multinodüler hiperplazisi nedeniyle görülürken, hipotiroid olgularda Hashimoto tiroiditine bağlı olarak ortaya çıkar (1). Burada, retrofarengeal uzanım gösteren ötiroid multinodüler guatr olgusunun konvansiyonel radyografi ve bilgisayarlı tomografi (BT) bulguları sunulmuştur.

## Olgu Sunumu

38 yaşında erkek hasta bir haftadır giderek artan nefes darlığı, çarpıntı, ateş, göğüs ve sırt ağrısı şikayetleri ile hastanemiz Acil Servisine başvurdu. Hastanın 8 yıl önce renal trasplantasyon öyküsü mevcuttu. 1,5 yıl önce tiroid ultrasonografi (US) tetkiki ve US eşliğinde tiroid ince iğne aspirasyon biyopsisi yapılarak multinodüler guatr tanısı konulmuştu. O zamanki laboratuvar sonuçlarına göre tiroid hormonları normal sınırlarda ve Anti TPO Ab negatifti. Hastaya ilaç tedavisi verilmemişti.

Hastanın fizik muayenesinde servikal bölgede inferiorda suprasternal çentiğe, yanlarda sternokleidomastoid kası ön kenarına kadar uzanan multinodüler tiroid glandı palpe edildi. Trakeada hafif sola deviasyon ve bilateral servikal zincirde ağrısız lenf nodları saptandı. Diğer fizik muayene bulguları normal değerlendirildi.

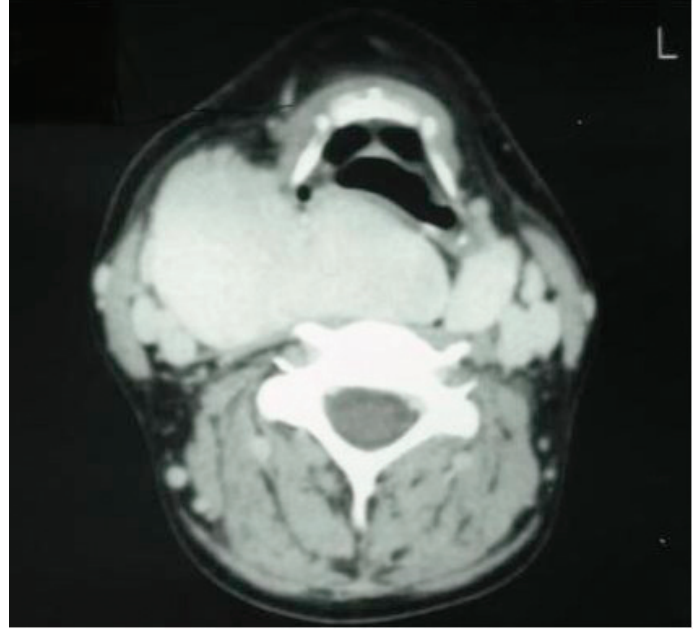
Hastaya hipofarenkste kitle ön tanısı ile iki yönlü servikal grafi çekildi. Servikal lateral grafide; prevertebral alan boyunca uzanan, larenks ve trakea hava sütununu anteriora iterek basılayan yumuşak doku görünümü izlendi (Şekil1). Hastanın multinodüler guatr öyküsü olduğundan, klinisyenler tarafından US tetkikine gerek duyulmadan acil şartlarda boyun ve toraks BT tetkiki istendi.



**Şekil 1:** Servikal lateral grafide prevertebral alan boyunca uzanan larenks ve trakea hava sütununu anteriora doğru yaylandıran yumuşak doku görünümü izleniyor.

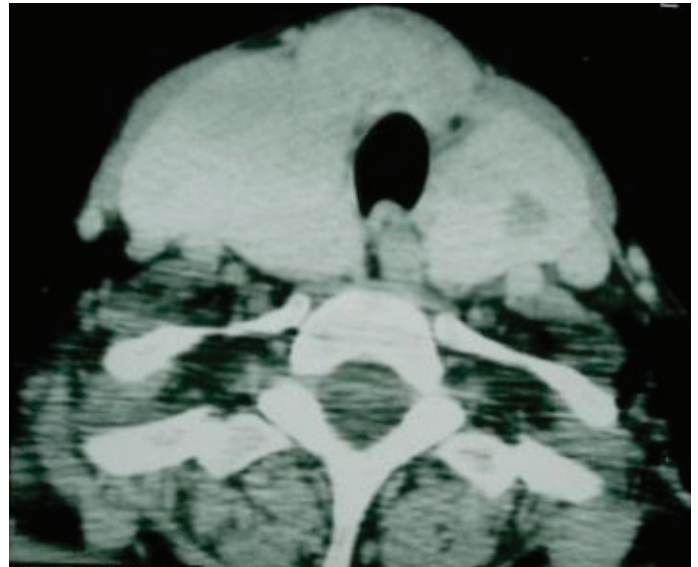
Acil Bilgisayarlı Tomografi Ünitesinde intravenöz 100 cc noniyonik kontrast madde verilerek 5 mm kesit kalınlığı ve kesit aralığı ile boyun BT, 7 mm kesit kalınlığı ve kesit aralığı ile toraks BT incelemesi yapıldı. Tiroid glandı

her iki lobunun ve isthmusun boyutları artmış, konturları lobüle olarak izlendi. Tiroid sağ lobunun superolaterale uzanım göstererek prevertebral ve parafarengal alanı doldurduğu, epiglot ve laringeal yapıları posteriordan çevrelediği orofarenks düzeyine kadar uzanım gösterdiği saptandı (Şekil2).



**Şekil 2:** Aksiyal BT kesitinde; tiroid sağ lobunun prevertebral, parafarengal ve perivasküler alanı doldurduğu, laringeal yapıları posteriordan çevrelediği ve anterior servikal bölgeye uzanım gösterdiği görülüyor.

Sağ piriform sinüs baskıya bağlı oblitere görünümdeydi. Inferiorda trakeayı anteriora deplase edip, hava sütununda asimmetrik daralmaya yol açmaktaydı. Tiroid parankimi içerisinde heterojen hipodens nodüller saptandı (Şekil 3).



**Şekil 3:** Aksiyal BT kesitinde; multinodüler tiroid glandının substernal intratorasik uzanım gösterdiği izleniyor.

Superiorda retrofarengeal olarak orofarens düzeyine kadar uzanan ve inferiorda retrostrenal intratorasik uzanım gösteren yumuşak doku kitlesi, belirgin kontrastlanma pater-niyle multinodüler guatr olarak rapor edildi. Kesitler dahilinde akciğer alanları normal olarak değerlendirildi.

Hastaya operasyon planlandı. Laboratuvar sonuçlarına göre tam kan değerleri normaldi. Üre, kreatinin, firinojen ve LDH değerleri yüksek, kreatinin klirensi, Na ve Cl değerleri düşük olarak geldi. Serbest T3: 1.78 pg/mL, serbest T4: 1.30 ng/dl, TSH: 0.10 IU/ml normal sınırlardaydı. Anti TPO Ab negatifti. Klinisyenler tarafından sonuçlar transplante böbrekte kronik rejeksiyon olarak değerlendirildi.

Laringoskopisinde; lateral farengeal duvarlarda şişlik ve orofarenks-hipofarenks düzeyinde hava pasajına doğru bombeleşme mevcuttu. Posterior duvarda, larinksi belirgin örten düzgün yüzeyle submukozal kitle izlendi. Sağ vokal kordda paramedian hareket kısıtlılığı mevcuttu. Rima glottis açık olarak değerlendirildi.

Hasta opere edildi. Cerrahi operasyon bulgularına göre sağ lobu yaklaşık 10x10x12 cm, sol lobu yaklaşık 8x8x10 cm boyutlarda olan, retrofarengeal alana uzanım gösteren ve trakeayı çepeçevre saran tiroid glandı total olarak çıkarıldı. Patoloji sonucu multinodüler guatr olarak geldi.

## Tartışma

Tiroid glandının değerlendirilmesi öncelikle klinik muayene bulgularına göre yapılır. Tiroid glandı sıklıkla inferior da mediastinum içine doğru büyüme gösterirken hem retrosternal hem de retrofarengeal kitle ile prezantasyonu oldukça nadirdir (1-7).

Tiroid dokusunun retrofarengeal boşlukta büyümesi iki şekilde olabilir. Birincisi, embriyolojik gelişim bozukluğu nedeniyle ortaya çıkan ektopik tiroid glandıdır. İkinci-si ve daha sık görüleni büyümüş tiroid glandının doğrudan retrofarengeal uzanımı sonucu meydana gelir. Bizim olgumuzda da hiperplazi nedeniyle büyük boyutlara ulaşan multinodüler tiroid glandı, doğrudan uzanım yoluyla superolateralde retrofarengeal boşluğu doldurmakta inferior da ise retrosternal intratorasik uzanım göstermekteydi. Literatürde yer alan olgular da genellikle multinodüler büyümüş tiroid glandının doğrudan retrofarengeal uzanımı şeklinde bildirilmiştir (1,2,4,6). Bu hastalarda tiroid hormon düzeyleri genellikle normal olup ötiroiddir (1). Bizim hastamız da multinodüler guatr tanısını aldığı 1.5 yıldan beri ötiroid olarak seyretmekteydi. Ancak literatürde Kenyon ve Robb'un bildirdiği olgu ektopik tiroid dokusu kaynaklı olup üzerine hashimato tiroiditi eklenmesi nedeniyle diğerlerinden farklıdır (3). Bizim olgumuzda Anti TPO Ab

negatif olarak geldi ve hashimato tiroiditi saptanmadı.

Bunların dışında literatürde bildirilmiş tiroid kaynaklı retrofarengeal kitleler içinde, intraparankimal hemorajiye bağlı retrofarengeal ve parafarengeal hematoma, akut pürülan tiroidite bağlı retrofarengeal abse, retrofarengeal kitle şeklinde bulgu veren metastatik papiller tiroid karsinomu olgularına rastlanmıştır (8,9,10).

Genellikle multinodüler guatrın retrofarengeal uzanımının, mediastinum içine uzanımından daha sonra ve geç bulgu olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir (3). Retrofarengeal guatra bağlı gelişen semptomlar ses kısıklığı, öksürük, dispne, gürültülü solunum, yutma güçlüğü, çarpıntı, halsizlik, palpabl kitle olarak bildirilmiştir (5). Bizim olgumuzda da muhtemelen uzun yıllardır multinodüler guatr mevcuttu ancak klinik olarak bası bulgusu vermediği ve kanda tiroid hormonları normal sınırlarda olduğu için ancak 1.5 yıl önce tanı konulmuştu. Hastanın tanı aldığı sırada nefes darlığı ve ses kısıklığı gibi glandın farenks ve trakeaya bası bulgusunu düşündüren şikayetleri bulunmuyordu. Bu nedenle olası retrofarengeal uzanımının değerlendirilmesi açısından boyun BT tetkikine gerek duyulmamıştı. Hastanın son bir haftadan beri ses kısıklığı, nefes darlığı, göğüs ve sırt ağrısı şikayetleri mevcuttu.

Guatrın evrelendirilmesi 1960 yılından bu yana 3 defa değişikliğe uğramıştır.

2002 yılı guatr sınıflaması (WHO/UNİCEF/ICCIDD) aşağıda verilmiştir:

Evre 0: Palpe edilebilir ve görünen guatr yok

Evre I: Palpe edilebilen fakat baş normal pozisyonda iken görünmeyen guatr

Evre II: Baş normal pozisyonda iken boyundaki şişkinliğin görüldüğü guatr

Literatürde guatrın retrosternal uzanımının BT'ye göre evrelendirilmesi ise aşağıdaki şekilde tanımlanmıştır (11).

a) Glandın mediasten içine uzanımı;

Evre 1: arkus aortanın üzerinde

Evre 2: arkus aorta düzeyinde

Evre 3: arkus aortanın altında olarak sınıflandırılırken,

b) Glandın anteroposterior boyutlarına göre;

Tip A (prevasküler), Tip B (retrovasküler-paratrakeal), Tip C (retrotrakeal) ve c) Glandın latero-lateral boyutlarına göre ise monolateral ya da bilateral olarak sınıflandırılmaktadır.

Literatürde glandın retrofarengeal uzanımı ile ilgili bir sınıflama bulunamadı.

Retrofarengeal ve retrosternal uzanım gösteren guatrın tedavisi genellikle cerrahidir. Servikal yaklaşım retrosternal guatr olgularında çoğunlukla tercih edilen güvenli bir cerrahi metoddur. Ekstraservikal yaklaşımın endikasyonları oldukça sınırlıdır. 2004-2008 yılları arasında tiroidektomi yapılan 2263 hastadan 355'inde retrosternal guatr tanımlanmış ve iki hastaya (%0.6) ekstraservikal yaklaşım uygulanmıştır (12). BT kesitsel görüntüleme evrelemenin yapılmasında ve ekstraservikal cerrahi yaklaşımın risk faktörlerinin belirlenmesine yardımcıdır. Yapılan bir çalışmada Evre 2 ve üstünde, Tip C retrosternal guatr olgularında ve malinitelerde cerrahi riski daha yüksek olarak bildirilmiştir (11). Bizim olgumuza kitlenin retrofarengeal uzanımının büyük boyutlara ulaşması ve hava yoluna bası yapması nedeniyle standart servikal yaklaşıma ek olarak torakotomi uygulandı ve total tiroidektomi yapıldı. Cerrahi sonrasında hastanın semptomları geriledi. Tiroid replasman tedavisine başlandı. Literatürde nadiren, tiroid supresyon tedavisi ile sonuç alınan ve semptomlarda gerileme olan vakalar bildirilmiştir (2).

Sonuç olarak retrofarengeal kitle semptomları ile gelen hastalarda, büyümüş tiroid glandının retrofarengeal uzanım gösterebildiği akılda tutulmalıdır. BT tetkiki tiroid glandının karakteristik yapısı ve kontrastlanma özelliği sayesinde büyümüş glandın ve tiroid kaynaklı kitlelerin uzanımının saptanmasında, retrofarengeal kaynaklı kitlelerden ayırıcı tanısında ve cerrahi tedavinin planlanmasında çok değerli bir görüntüleme yöntemidir.

## Kaynaklar

1. Som PM, Shuar JMA. Retropharyngeal mass as a rare presentation of a goiter: CT findings. *Journal of Computer Assisted Tomography*. 1991; 15(5):823-5.
2. Berenholz LP, Segal S, Kessler A. Goitre presenting as an oropharyngeal mass: an unusual finding in the elderly. *The Journal of Laryngology and Otology*. 1999; 113(2):170-1.
3. Kenyon GS, Robb PJ. Hashimoto's disease presenting as an unusual retropharyngeal mass. *Clinical Oncology* 1981; 9:159-164.
4. Atasoy Ç, Karagülle AT, Akyar S. Multinodular goiter presenting as a retropharyngeal mass: a case report. *Journal of Ankara Medical School*. 2002;24(2): 87-90.
5. Govindaraj S, Rezaee R., Pearl A., Som P.M., Urken M.L. Radiology Quiz Case. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003; 129(9):1013-4.
6. Soboroff BJ. An unusual retropharyngeal mass. *Transactions of the American Academy of Ophthalmology and Otolaryngology*. 1977; 84:136-8.
7. Dalgıç N, Ergenekon E, Bideci A, Erbaş G, Koç E, Talı T, Atalay Y. Congenital retropharyngeal goiter in a newborn as a magnetic resonance

imaging finding. *Pediatrics International* 2001; 43:431-3.

8. Paleri V, Maraju RS, Ali MS, Ruckley RW. Spontaneous retro-and parapharyngeal haematoma caused by intrathyroid bleed. *The Journal of Laryngology and Otology*. 2002; 116(10): 854-8.
9. Chrobok V, Celakovsky P, Nunez-Fernandez D, Simakova E, Acute purulent thyroiditis with retropharyngeal and retrotracheal abscesses. *Journal of Laryngology and Otology*. 2000; 114(2): 151-3.
10. DiLeo M, Baker KB, Deschler DG, Hayden RE. Metastatic papillary thyroid carcinoma presenting as a retropharyngeal mass. *American Journal of Otolaryngology*. 1998; 19(6): 404-6.
11. Mercante G, Gabrielli E, Pedroni C, Formisano D, Berolini L, Nicoli F, Valcavi R, Barbieri V. *Head Neck*. 2010; Aug 24 (Epub ahead of print).
12. Raffaelli M, DE Crea C, Ronti S, Bellantone R, Lombardi CP. Substernal goiters: Incidence, surgical approach, and complications in a tertiary care referral center. *Head Neck*. 2010; Nov 10 (Epub ahead of print).

Sorumlu Yazar: Bige SAYIN

96.sokak Yazıkırı sitesi B-2 Blok No:12

Ümitköy/Ankara- TÜRKİYE

Tel: 508 40 44

E-mail: bigesayin99@yahoo.com.tr

## Spontaneous Hematoma of the Rectus Sheath Associated with Low Molecular Weight Heparin

### *Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin Kullanımı İle İlişkili Spontan Rektus Kılıfı Hematomu*

Nurdan CAY, Muharrem TOLA

Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi Radyoloji Kliniği, Ankara- TÜRKİYE

#### **Abstract**

**Aim:** A 67-year-old woman was on LMWH (enoxaparin) therapy because of atrial fibrillation. At the third day of treatment, an abdominal pain, especially on the left side, was reported by the patient. On physical examination, a large solid mass with a size of 10 x 15 cm was palpated in the upper and lower left quadrants of the abdomen. Laboratory tests revealed a decrease in hemoglobin level by 5.8 gr/dL. Abdominal ultrasonography showed a large superficial cyst-like mass on the abdominal wall. On CT scans, a large iso- to hyperdense mass (7x16x14 cm) with hypodense areas in it posterior to the rectus abdominis muscle was demonstrated. LMWH treatment was discontinued, and 2 sets of red blood cell replacement were done. At next day, volume of the mass decreased and abdominal ultrasonography showed a smaller hematoma. Abdominal pain was resolved at the sixth day. She was discharged at the eighth day.

**Keywords:** Hematoma; Heparin; Low-Molecular-Weight.

#### **Özet**

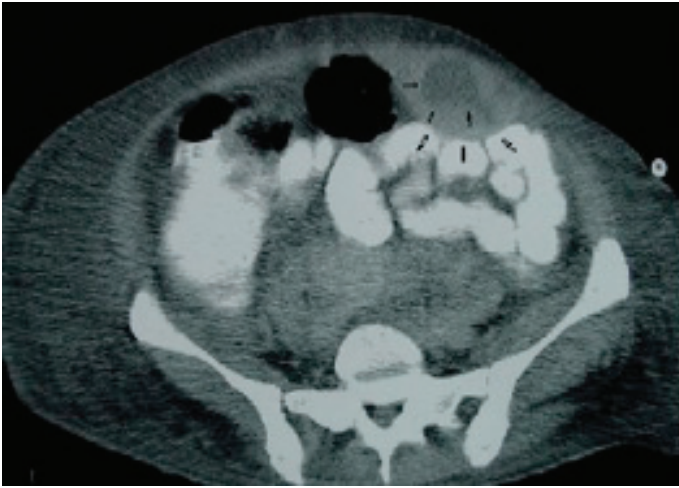
**Amaç:** 67 yaşında bir bayan AF nedeniyle DMAH (enoksaparin) tedavisi alıyordu. Tedavisinin 3. gününde özellikle sol tarafta belirgin olan karın ağrısı oldu. Fizik muayenede sol üst ve alt kadrantlarda palpe edilen 10 x 15 cm boyutlarında büyük bir kitle saptandı. Laboratuvar testlerinde hemoglobin seviyesinde 5.8 gr/dL düşüş saptandı. Yapılan abdominal ultrasonografide yüzeysel büyük kist benzeri bir kitle saptandı. Bilgisayarlı tomografide ise rektus abdominis kasının posteriyöründe içinde hipodens alanlar olan büyük izo-, hiperdens bir kitle (7x16x14 cm) saptandı. DMAH tedavisi kesilerek 2 ünite kırmızı kan transfüzyonu yapıldı. Ertesi gün yapılan muayene ve ultrasonografide kitle boyutunun azalmış olduğu görüldü. 6. günde ağrının geçmesi üzerine 2 gün daha gözlenen ve tedavisi tamamlanan hasta 8. günde taburcu edildi.

**Anahtar Kelimeler:** hematom; heparin; düşük molekül ağırlıklı.

A 67-year-old woman with previous coronary artery bypass surgery was on low molecular weight heparin (LMWH) (enoxaparin) therapy because of atrial fibrillation during hospitalization for decompensated heart failure. No warfarin therapy was started because she had angina, and selec-

tive coronary and bypass angiography after compensation of heart failure signs and symptoms were planned. At the third day of treatment, an abdominal pain, especially on the left side, was reported by the patient. On physical examination, a large solid mass with a size of 10 x 15 cm was

palpated in the upper and lower left quadrants of the abdomen. Laboratory tests revealed a decrease in hemoglobin/hematocrit level by 5.8 gr/dL and 17.4%, respectively. Other laboratory parameters like aPTT and INR were otherwise normal. An abdominal ultrasonography showed a large superficial cyst-like mass on the abdominal wall. For further anatomical and tissue characterization, abdominal computed tomography (Toshiba Aquilion 64, United States) was performed. On CT scans, a large iso- to hyperdense mass (7x16x14 cm) with hypodense areas in it posterior to the rectus abdominis muscle was demonstrated (Figure).



**Figure:** Abdominal computed tomography showing the large hematoma (arrows) with bleeding areas (black arrows) in the left rectus sheath of the abdomen.

LMWH treatment was discontinued, and 2 sets of red blood cell replacement were done. At next day, volume of the mass decreased on physical examination and abdominal ultrasonography showed a smaller hematoma. Because of high dose of radiation, no control computed tomography was performed. The complaint of abdominal pain was resolved at the sixth day of hospitalization. The patient was discharged at the eighth day of therapy. Before discharge, an abdominal ultrasonography demonstrated much smaller hematoma with a size of 4 x 5 cm. Spontaneous extraperitoneal bleeding might occur without trauma or any specific underlying pathology, and often occurs in patients under anticoagulant therapy. Anticoagulant therapy, especially LMWH, is used for various clinical conditions such as acute coronary syndromes, pulmonary embolism, immobilization, and atrial fibrillation. The most common adverse effect of that treatment modality is bleeding complication. Although great majority of bleeding is minor, life-threatening bleeding such as intracranial one might be seen. In addition, although hemorrhage might be seen in any region of the body, hematoma in the rectus sheath can occur, occasionally. Older patients are more prone to

bleeding with anticoagulant drugs than younger ones (1, 2). Several hypotheses have been suggested, including diffuse small vessel arteriosclerosis, heparin-induced immune microangiopathy, and unrecognized minor trauma (3, 4). In the case of acute abdominal pain with an abdominal mass and anemia, rectus sheath hematoma beside a tumoral mass should be thought especially in the patients who are on LMWH treatment, and non invasive radiological diagnostic tools should be used. Computed tomography is definitely superior to ultrasound in the diagnosis of this rare clinical entity. Because it can provide much more information about anatomical and tissue characterization. In addition, in the case of difficulties in the diagnosis with CT scan, magnetic resonance imaging can be used. So, unnecessary laparotomic approaches can be avoided. In the therapy, conservative approach with discontinuation of anticoagulant therapy and fluid replacement is enough in the majority of cases. However, an intervention such as percutaneous arterial embolization and sometimes open surgery might be needed in patients with hemodynamic compromise and continued bleeding (5).

## References

1. Macias-Robles MD, Peliz MG, Gonzalez-Ordonez AJ. Prophylaxis with enoxaparin can produce a giant abdominal wall haematoma when associated with low doses of aspirin among elderly patients suffering cough attacks. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2005;16:217-9.
2. Jabr FI. Rectal sheath hematoma in an elderly woman after anticoagulation treatment. *J Am Geriatr Soc* 2006;54:871-2.
3. Torres GM, Cernigliaro JG, Abbitt PL, Mergo PJ, Hellein VF, Fernandez S, Ros PR. Iliopsoas compartment: normal anatomy and pathologic processes. *Radiographics* 1995;15:1285-97.
4. McCort JJ. Intraperitoneal and retroperitoneal hemorrhage. *Radiol Clin North Am* 1976;14:391-405.
5. Rimola J, Perendreu J, Falcó J, Fortuño JR, Massuet A, Branera J. Percutaneous arterial embolization in the management of rectus sheath hematoma. *AJR Am J Roentgenol.* 2007 Jun;188(6):W497-502.

Corresponding Author: Uz. Dr. Nurdan ÇAY  
Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi Radyoloji Kliniği, Kızılay Sokak No:4, Sıhhiye-TÜRKİYE  
Phone: +90 312 306 16 64  
E-mail: nurdancay@yahoo.com



# DETAY

**PATOLOJİ VE SİTOLOJİ LABORATUVARI**

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

[detaypatoloji@gmail.com](mailto: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 gönderilmez. 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 kelimeden 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](mailto: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](http://www.ortadoguyayincilik.com)

e-posta: [bilgi@dentortadoguyayincilik.com](mailto:bilgi@dentortadoguyayincilik.com)

**İletişim:** Aslı ÇALIŞKAN

Tel: (0312) 418 40 77

e-posta: [asliscaliskan\\_06@hotmail.com](mailto: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](http://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](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](mailto: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](mailto: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](http://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 Armstrong 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@dentadoguyayincilik.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.



ÖZEL

**BÜYÜK ORTADOĞU**  
**TIP MERKEZİ**

**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](http://www.buyukortadogutip.com.tr) - [yonetim@buyukortadogutip.com.tr](mailto:yonetim@buyukortadogutip.com.tr)