

Türk



Klinik Laboratuvar

TURKISH JOURNAL of CLINICAL LABORATORY

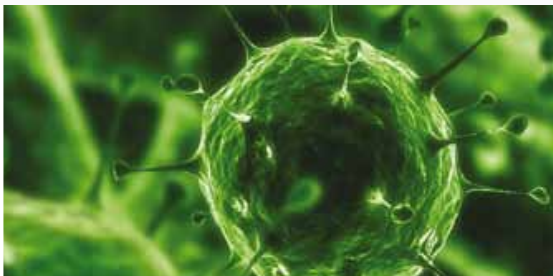
Dergisi

3 Ayda Bir Yayınlanan Bilimsel Tıp Dergisi

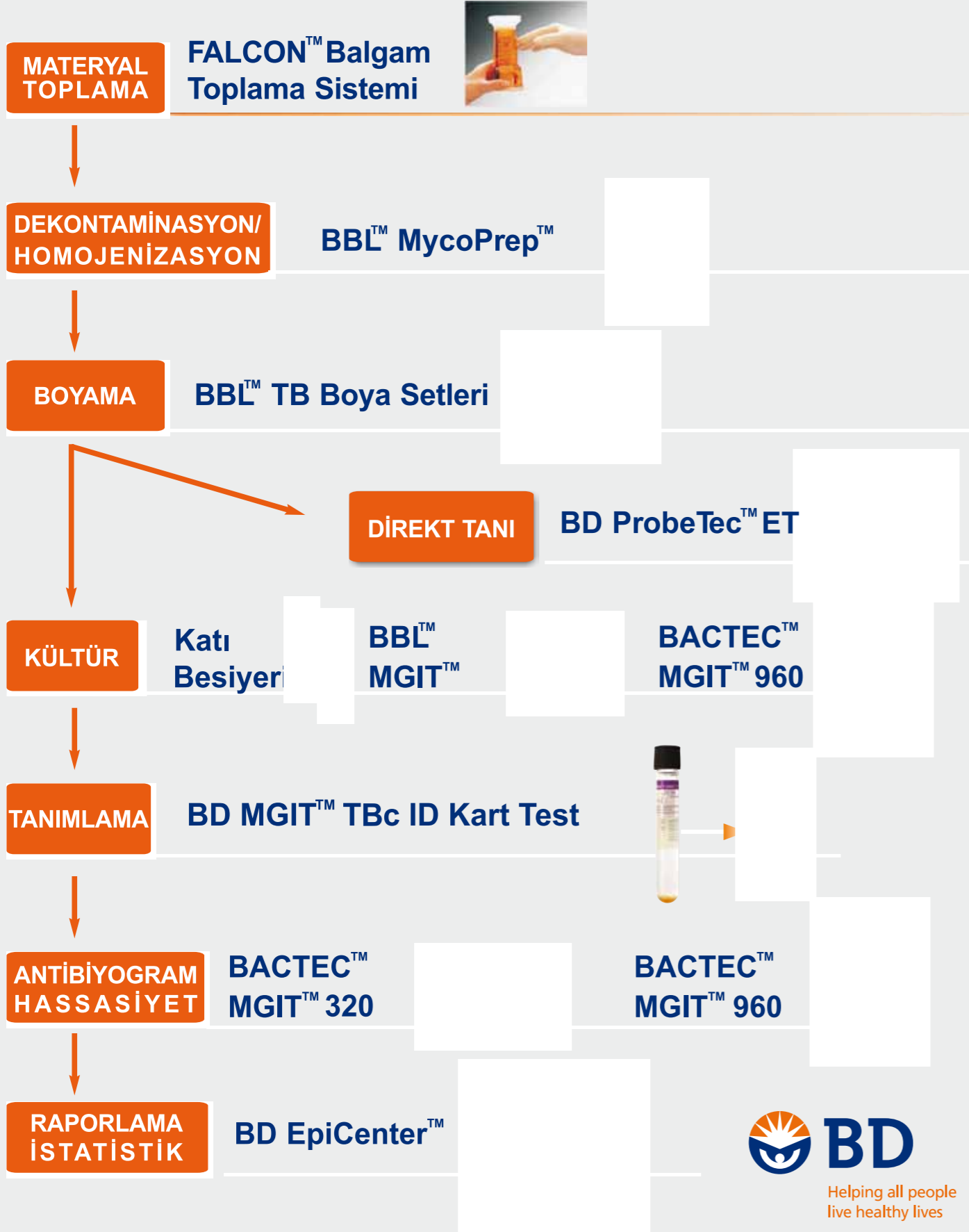
ISSN: 1309-7237

Kasım 2010 Cilt:1 Sayı:1

KBY'de Laboratuvar Bulguları Micro CRP Sistemlerinin Karşılaştırılması



Tüberküloz tanısı: materyalden rapora kadar



 **ÖZEL ORTADOĞU
19 MAYIS HASTANESİ**

Mutluluk Sağlıkla Başlar...

Tüm Branşlarda
Uzman Hekim Muayenesi
Ameliyathane
Tüm Radyoloji ve
Laboratuvar Tetkikleri

**İletişim
478 28 28**

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



TÜRK KLİNİK LABORATUVAR DERGİSİ

TURKISH JOURNAL of CLINICAL LABORATORY

TÜRK KLİNİK LABORATUVAR DERGİSİ - TURKISH JOURNAL of CLINICAL LABORATORY

KASIM 2010 CİLT:1 SAYI:1 ÜÇ AYDA BİR YAYINLANIR/ NOVEMBER 2010 VOLUME :1 ISSUE: 1

DERGİ ABONELİK ÜCRETİ: 40 TL (4 SAYI)

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

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

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

EDİTÖR YARDIMCISI/CO EDITOR IN CHIEF : Mik. Dr. İsmail CEYHAN

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

Biyokimya ve Klinik Biyokimya (Tıbbi Biyokimya)

Prof. Dr. Cemal ÇEVİK Doç. Dr. Metin YILDIRIMKAYA

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji (Tıbbi Mikrobiyoloji)

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

Patoloji

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

Radyoloji

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

Nükleer Tıp

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

Toksikoloji

Prof. Dr. Hamit HANCI Doç. Dr. Erhan BÜKEN

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

Reklam Koordinatörü : Meltem GÜREL Tel: (0312) 418 40 77

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

Baskı

: Ateş Basım Hizmetleri Tel: 341 42 88

TÜRK KLİNİK LABORATUVAR DERGİSİ

TURKISH JOURNAL of CLINICAL LABORATORY



DANIŞMA KURULU / EDITORIAL BOARD

Prof. Dr. Hüseyin AKAN

Prof. Dr. Jamal MUSAYEV

Doç. Dr. Suha KOPARAL

Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ

Prof. Dr. Hamdi ÖĞÜŞ

Doç. Dr. Meliha KORKMAZ

Prof. Dr. Recep AKDUR

Prof. Dr. Yusuf ÖZBEL

Doç. Dr. Mustafa KULA

Prof. Dr. Nevzat ALKAN

Prof. Dr. Figen ÖZTÜRK

Doç. Dr. Sezin KULAÇOĞLU

Prof. Dr. Tülin ARAS

Prof. Dr. Işıl SOYUER

Doç. Dr. Özlem KÜÇÜK

Prof. Dr. Diler ASLAN

Prof. Dr. Nedim SULTAN

Doç. Dr. Eşref PAŞAOĞLU

Prof. Dr. Bahar BOYDAK

Prof. Dr. Kadirhan SUNGUROĞLU

Doç. Dr. İrfan PEKSOY

Prof. Dr. Salih CENGİZ

Prof. Dr. Ahmet TUTUŞ

Doç. Dr. Selda SEÇKİN

Prof. Dr. Namık DELİBAŞ

Prof. Dr. Fikriye URAS

Doç. Dr. Gülnur TARHAN

Prof. Dr. İlker DURAK

Doç. Dr. Yasemin AKÇAY

Doç. Dr. Alp USUBÜTÜN

Prof. Dr. Rıza DURMAZ

Doç. Dr. Murat ALPER

Doç. Dr. Doğan YÜCEL

Prof. Dr. Salim DEMİRCİ

Doç. Dr. Murat ARGON

Yrd. Doç. Dr. Neşe Nur USER

Prof. Dr. Kaya EMERK

Doç. Dr. Gönül ASLAN

Uz. Dr. Yetkin AĞAÇKIRAN

Prof. Dr. Özcan EREL

Doç. Dr. Sema AŞKIN

Uz. Dr. Uğur KAŞAR

Prof. Dr. Zeynep GÜLAY

Doç. Dr. Faruk AYDIN

Uz. Dr. Elmas ÖĞÜŞ

Prof. Dr. Murat GÜNAYDIN

Doç. Dr. Dilaver DEMİREL

Uz. Dr. Selçuk YAKIŞTIRAN

Prof. Dr. Selim GÜNGÖR

Doç. Dr. Mustafa ERTEK

Dr. Ramazan UZUN

Prof. Dr. Nezahat GÜRLER

Doç. Dr. Mehmet ERYILMAZ

Dr. Rajae EI AOUAD

Prof. Dr. Nevzat KARABULUT

Doç. Dr. Paşa GÖKTAŞ

Dr. Pathom SAWANPANYALERT

Prof. Dr. İbrahim KARAHAN

Doç. Dr. Adalat HASANOV

Dr. Mikhail EROPKIN

Prof. Dr. Muhammad Amanullah KHAN

Doç. Dr. Mustafa İLHAN

Dr. Lanfranco FATTORINI

Prof. Dr. Halil KURT

Doç. Dr. Arzu KANIK

Dr. Altay Suroy KOSOVA

Prof. Dr. Mehmet KOÇ

Doç. Dr. Lale KARABIYIK

Dr. Sayoki G. MFINANGA

Prof. Dr. Yahya LALELİ

Doç. Dr. Alp KARADEMİR

Dr. Azis PLOLLZHANI

Prof. Dr. Candan MEMİŞ

Doç. Dr. Seyed Mohammad JAZAYERİ

Dr. Seyed Mohammad JAZAYERİ

İÇİNDEKİLER INDEX

BAŞLARKEN

Orjinal Araştırma (Original Article)	1
Micro CRP Sistemlerinin Nefelometrik Yöntemle Karşılaştırılması Mustafa BERKTAŞ, Mehmet PARLAK, Görkem YAMAN, Aytekin ÇIKMAN, Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU, Metin YÜCE	
Orjinal Araştırma (Original Article)	7
Değişik Kaynaklardan İzole Edilen <i>Mycobacterium bovis</i> Suşlarının Moleküler Tiplendirilmesi İsmail CEYHAN, Gülnur TARHAN, Hakan YARDIMCI	
Orjinal Araştırma (Original Article)	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ve <i>Acinetobacter</i> Türlerine Ait Klinik İzolatlarda Metallo Beta - Laktamaz Yapımının Farklı Feonotip Yöntemlerle İncelenmesi Merih ŞİMŞEK, Nedim SULTAN	
Orjinal Makale (Original Article)	17
2006 Yılı Türkiye Ulusal Zehir Danışma Merkezine Yapılan Antidepresan İlaç Zehirlenmelerine Bağlı Başvuruların Değerlendirilmesi Selçuk YAKIŞTIRAN, Didem İKİNCİOĞULLARI, A. Arzu SAYIN, Cansın ARDA, Ebru TEMEL GÜRSEL, Emel TÜRKBAY, Günseli Tuba KABAKÇI, Naci ÖZER, Nurhan ÖZCAN, Nuşin HARMANCI, Nüvit GÖNÜL, Nurhan ÖZCAN, Elvan KARAOĞLU, Güler KARAHAN, Gülsen TOPAKTAŞ, Nihal EMİROĞLU, Sibel YAMALIN	
Derleme (Review)	27
Kronik Böbrek Hastalığında Laboratuvar Fatih BAKIR, Metin YILDIRIMKAYA	
Derleme (Review)	32
Gama Kameralarının Kalite Kontrol Testleri Şenay KILIÇ, Ümit Özgür AKDEMİR	
Derleme (Review)	37
Laboratuvar Güvenliği: Biyogüvenlik İsmail CEYHAN	
Case Report	44
Malignant Fibrous Histiocytoma of the Right Cheek Rukiye GÜLBAHÇE, Canan ALTUNKAYA, Nuran SUNGU, Muzaffer ÇAYDERE, Hüseyin ÜSTÜN	
Vaka Sunumu	49
Zuska Hastalığı (Laktiferöz Fistül) Emine ÖZTÜRK, Cüneyt YÜCESOY, Binnur ÖNAL, Meltem ÖZDEMİR, Baki HEKİMOĞLU	
Dergi Yazım Kuralları (Instruction)	



Prof. Dr. Mustafa ALTINBAŞ
Baş Editör

Dışkapı Yıldırım Beyazıt
Eğitim Araştırma Hastanesi
Medikal Onkoloji Klinik Şefi



Prof. Dr. Ali Pekcan DEMİRÖZ
Editör

Ankara Eğitim ve Araştırma
Hastanesi Başhekimi

BAŞLARKEN

Başlangıçlar her zaman heyecan vericidir. Bizler de Türk Klinik Laboratuvar Dergimizi çıkarmaktan dolayı heyecanlıyız ve gururluyuz. Bu derginin ortaya çıkmasında emeği geçen herkese teşekkür ediyoruz ve bu güzel eserden dolayı kutluyoruz.

DNT ORTADOĞU YAYINCILIK A.Ş. olarak Ortadoğu Tıp Dergisinden sonra bilimsel tıp dergisi olarak çıkardığımız bu ikinci dergimizdir. Çalışmalarımız ve gayretlerimiz tıbbın her branşında siz okuyucularımıza bilimsel, düzgün ve doyurucu dergi sunmak için olacaktır. Dergilerimiz hekim arkadaşlarımızın ortak eseri özelliğinde olacağından yazıların, araştırmaların kolay ulaşacağı, yayın için değerlendirileceği ve hak ettiği yeri bulacağından eminiz. Hedefimiz Türk Tıp Literatürüne ve de Dünya tıp bilimine çalışmalarımızla katkıda bulunmaktır. Bu saygıdeğer amaca hizmet etmek hepimizin ortak idealidir.

Türk Klinik Laboratuvar Dergisinin çıkmasında DNT ORTADOĞU YAYINCILIK A.Ş. çalışanlarının büyük ve özverili çalışmalarının payı vardır. Her birine teşekkür ediyoruz. Derginin ortaya çıkmasında Editör, Editör Yardımcısı, Bölüm Editör ve Yardımcıları, ayrıca Danışma Kurulunda yer alan değerli arkadaşlarımızın çok büyük emek ve katkıları vardır. Her bir meslektaşımıza ayrı ayrı teşekkürlerimizi sunuyoruz. Bundan sonraki çalışmalarında başarılar diliyor ve bundan sonrası için de üstün çalışma azim ve gayretinizin devamını temenni ediyoruz.

Türk Klinik Laboratuvar Dergisi tıp camiası için hayırlı olsun !

Dergimiz bilimsel düzeyde uzun soluklu ve etkinliği kalıcı olsun !

Bu dileklerimizle meslektaşlarımıza saygı ve sevgilerimizi sunuyoruz.

HeCo 5 Plus

Hematoloji Laboratuvarları için İdeal Partner



Otomatik Kan Sayım Cihazı
5 Part-Diff Lökosit Sayımı, 23 Parametre



Sokullu Mehmet Paşa Mahallesi 6. Sokak
No: 6/A Sokullu, Çankaya, Ankara, Türkiye
Tel :0 312 479 33 30 (pbx) • 0 312 479 33 15
Fax :0 312 478 37 18
E-mail : info@bome.com.tr • Web www.bome.com.tr

Orjinal Araştırma

Micro CRP Sistemlerinin Nefelometrik Yöntemle Karşılaştırılması

Comparison of Micro CRP Systems with Nephelometric Method

Mustafa BERKTAŞ, Mehmet PARLAK, Görkem YAMAN, Aytekin ÇIKMAN, Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU, Metin YÜCE

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 13.08.2010

Kabul Tarihi: 22.11.2010

Özet

Giriş: CRP, enflamatuvar sitokinlere cevap olarak sentezlenen bir akut faz proteini. Günümüzde nefelometrik ve turbidometrik yöntemler yanında, tam kan ve serumdan çok kısa sürede CRP ölçümü yapılabilen basit ve hızlı yöntemler geliştirilmiştir. Çalışmada, hızlı CRP ölçümü için önerilen NycoCard, QuikRead ve i-Chroma mikro-CRP sistemlerinin performansları, nefelometrik yöntemle kıyaslanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen kan örneklerinde Behring nefelometrik yöntemle CRP ölçümleri yapıldı. CRP düzeyleri 3,17 mg/L - 203 mg/L arasında değişen 50 serum örneği alınarak aynı gün içinde NycoCard, QuikRead ve i-Chroma sistemleri ile CRP ölçümleri yapıldı ve sonuçlar kaydedildi.

Bulgular: Nefelometrik yöntemle ortalama CRP değeri 56.1 mg/L olarak saptanan serumlarda; NycoCard, QuikRead ve i-Chroma sistemleri için bu değer sırasıyla 34.5, 70.1 ve 49.9 mg/L olarak saptandı. Nefelometrik yöntemle diğer üç sistem arasındaki uyum; QuikRead, i-Chroma ve NycoCard için sırasıyla % 91, % 86.4 ve % 66 olarak tespit edildi.

Sonuç: Az miktardaki örneklerde hızlı CRP ölçümü gereken durumlarda üç mikro-CRP sisteminin de kullanılabilirliği, sistemlerin birbirlerine farklı üstünlükleri nedeniyle laboratuvarların kendi ihtiyaçlarına göre seçim yapması gerektiği ancak, hasta tanısı ve takibinde aynı sistemin kullanılmasının önemli olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: CRP; nefelometri; mikro-CRP; akut faz proteini

Abstract

Object: CRP is an acute phase protein, synthesized as response to inflammatory cytokines. Besides nephelometric and turbidometric assays, simple and rapid methods have also been developed to measure CRP from whole blood and serum. In this study, results of rapid micro-CRP systems; NycoCard, i-Chroma, QuikRead have been compared with the nephelometric method.

Materials and Methods: CRP was measured promptly from blood samples with Behring nephelometry system. 50 serum samples with CRP levels between 3.17 mg/L and 203 mg/L were remeasured with NycoCard, QuikRead i-Chroma micro-CRP systems at the same day.

Results: The average CRP value was 56.1 mg/L with nephelometric method; whereas average values of CRP detected with NycoCard, QuikRead and i-Chroma systems were 34.5 mg/L, 70.1 mg/L, and 49.9 mg/L, respectively. The agreement of nephelometry and other systems were found as 91% for QuikRead, 86.4% for i-Chroma and 66% for NycoCard.

Conclusion: In cases where rapid CRP measurement is required from small amount of samples, all three micro-CRP systems could be used. Each laboratory should define their choices according to their needs, however the most important factor for accurate measurement is to use the same system.

Keywords: CRP; nephelometry; micro-CRP; acute-phase proteins

Giriş

C-Reaktif protein (CRP), santral bir por etrafında simetrik olarak birbirine nonkovalan olarak bağlanmış beş adet 23 kilodalton büyüklüğünde subunitlerden oluşan nonglikozile bir proteindir (1). Tanımlanan ilk akut faz proteini olan CRP, *Streptococcus pneumonia* hücre duvarının C-polisakkariti ile reaksiyona giren protein olarak 1930 yılında keşfedilmiş olup bu nedenle CRP adını almıştır (1,2). CRP ile C-polisakkariti arasındaki bağlantılar fosforilkolin rezidüleri tarafından sağlanmaktadır. Bu bölgeye bağlanan CRP'nin immun yanıtı uyarıp *S.pneumoniae* enfeksiyonuna karşı organizmayı koruduğu tahmin edilmektedir (3,4). CRP, Tümör Nekrozis Faktör-alfa (TNF- α), interlökin-6 (IL-6) ve IL-1 gibi çeşitli enflamatuvar sitokinlere cevap olarak ağırlıklı olarak karaciğerden sentezlenen bir akut faz proteindir (5). Enfeksiyona ek olarak cerrahi, travma, otoimmün hastalıklar, kanser ve kronik enflamatuvar hastalıklara bağlı olarak da düzeyi artar. (6). Akut faz yanıtı sırasında 24-48 saat içinde enflamatuvar yanıtın şiddetine bağlı olarak 1000 kat artış görülebildiği gibi, iyileşmeye bağlı olarak kısa sürede eski değerlerine dönebilir. Serumda uygun saklama koşullarında uzun süre stabil kalan bir moleküldür. Diurnal veya mevsimsel değişiklik göstermez. Serum düzeyleri yaş ve cinsiyetten bağımsızdır. Kanda yarı ömrü yaklaşık 19 saattir (7,8). Elektroforetik alanda immunoglobulinlerle beraber gama (γ) fraksiyonunda bulunur (9). Mikrobiyal enflamasyonu diğer nedenlere bağlı enflamasyondan her zaman ayırt edememesine karşın hasarla birlikte çok hızlı yükselmesi ve iyileşmeye bağlı olarak hızlı bir şekilde düşmesi nedeniyle enflamatuvar ve infeksiyöz hastalıklarda hastalığın aktivitesini saptama ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (6,10).

CRP düzeylerinin belirlenmesinde immundefelometri (IN), immunturbidimetri (IT), immunluminometri (IL), radyal immun difüzyon (RID), radyo-immunoassay (RIA) ve ELISA yöntemleri kullanılabilir (11). CRP'nin kardiyovasküler olayları göstermede LDL-kolesterole nazaran daha güçlü bir risk göstergesi olduğu açıklandıktan sonra 0.007 mg/L konsantrasyonda bile ölçüm yapabilen

“yüksek duyarlı CRP” (hs-CRP) yöntemleri geliştirilmiştir (12,13).

Günümüzde CRP ölçümü için basit ve hızlı metodlar bulunmaktadır. Bu metodlarla tam kan ve serumdan çok kısa sürede CRP ölçümü yapılabilen, muayene sürecinde alınan CRP sonuçları, hastalığın bakteriyel, viral ayrımı konusunda klinisyenlere yardımcı olarak gereksiz antibiyotik kullanımını önlemektedir (14).

Bu çalışmada, CRP düzeyleri açısından laboratuvar rutin olarak kullanılan nefelometrik yöntem (NFL BN-II; Dade Behring, Siemens) referans alınmış, basit ve hızlı CRP ölçümü için önerilen NycoCard® Micro CRP Axis-Shield®, QuikRead® CRP Orion Diagnostica ve i-Chroma™ Micro CRP sistemlerinin performansları bu referans yöntemle kıyaslanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışma; Eylül 2007 tarihinde, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarına CRP ölçümü için gönderilen kan örnekleri üzerinde yürütüldü. Kan örnekleri antekübital venden, pıhtı aktivatörü içeren, anti-koagülan içermeyen jelli tüplere (Green Cross MS, Green Vac-Tube 5 ml) alındı, kanlar laboratuvara teslim edildiği andan itibaren 30 dk-1 saat içerisinde 10.000 devirde 15 dakika santrifüj edildi. Tüm serumlarda NFL BN-II (Dade Behring, Almanya) nefelometre sistemi ile CRP ölçümü yapıldı. CRP düzeyi 3,17 mg/L ile 203 mg/L arasında saptanan 50 serum örneği ayrı ayrı çalışmaya dahil edildi. Tüm serumlar aynı gün içinde NycoCard, QuikRead ve i-Chroma Micro CRP sistemleri ile çalışılarak sonuçlar kaydedildi.

Dade Behring NFL BN-II:

İmmundefelometre esasına dayanan bir sistemdir. İnsan CRP'sine spesifik monoklonal antikorla kaplı polistren partiküller, CRP içeren örnek ile karşılaştığında agregasyon meydana gelir. Oluşan bu agregat örnek üzerine uygulanan ışık demetini dağıtır. Dağılan ışığın yoğunluğu, örnekteki CRP miktarı ile orantılıdır. Daha sonra konsantrasyonu bilinen standartla karşılaştırılarak elde edilen kantitatif sonuçlar mg/L cinsinden okunur. Okuma sınırı 3.17 mg/L ile 203 mg/L arasındadır.

NycoCard® Micro CRP Axis-Shield®:

Test aparatı içine yerleştirilmiş anti-CRP bağlı membran, yüksek örnek dilüsyonunda %100 oranında CRP bağlamaya izin verir. Ölçüm için cihaza verilen örneklerin CRP düzeyleri, üç dakika içerisinde kantitatif olarak mg/L cinsinden alınabilmektedir. Kit içerisinde çıkan kapiller tüp vasıtası ile tam kan, serum, plazma gibi ürünlerin 5 µl miktarları çalışma için yeterli olmaktadır. Tam kan örneklerinde ölçüm aralığı 8-250 mg/L arasında iken bu oran serum ve plazmada 5-150 mg/L arasında değişmektedir.

Çalışmada, kapiller tüplere 5 µl miktarda alınan serum örnekleri dilüsyon sıvısı içerisine (R1) bırakılarak çalkalandı. Bu karışımdan pipet vasıtası ile 50 µl alınıp membran içeren test aparatına konuldu ve sırası ile bir damla konjugat (R2) ve bir damla yıkama solüsyonu (R3) eklendi. Daha sonra NycoCard Reader II ile cihaz tarafından okuma yapıldı.

QuikRead® CRP Orion Diagnostica:

Sistem, üç dakikadan daha az sürede kantitatif olarak mg/L cinsinden sonuç veren ve immunturbidimetri ile okuma esasına dayanmaktadır. Kit içerisinde bulunan pipet yardımı ile alınan 20 µl tam kan, serum veya plazma örneği ölçüm için yeterli olmaktadır. Ölçüm sınırı tamkan, serum ve plazma için 8-160 mg/L arasındadır.

Çalışılacak serumlardan bir pipet vasıtası ile alınan 20 µl örnek, önceden hazırlanmış olan 1 ml hazır kullanım bufferi içine boşaltıldı. Kapağı kapatılarak önerilen şekilde çalkalanan örnekler cihaz içerisine yerleştirildi ve kör okuma gerçekleştirildi. Daha sonra çıkarılıp kapak üzerine bastırılarak reaktif tüpe eklendi. Karıştırıldıktan sonra tekrar cihaza yerleştirilerek okuma gerçekleştirildi.

i-CHROMATM Micro CRP:

Flouresans immunoassay yöntemi ile CRP konsantrasyonunu ölçmek için tasarlanan bu sistem beş dakikalık bir sürede kantitatif olarak mg/L cinsinden sonuç vermektedir. Tam kan örneğinden 20 µl, serum ve plazma örneğinden 10 µl yeterli olup ölçüm sınırı 2.5-300 mg/L arasında değişmektedir.

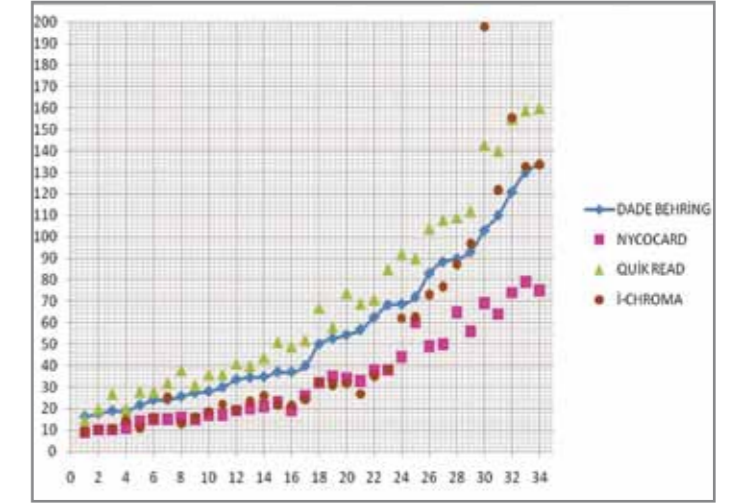
Hasta serumlarından kapiller tüp yardımı ile alınan örnekler “detection buffer” ile dolu tüp içine konularak tersiyüz edildi. Buradan pipet yardımı ile alınan örnekler tek kullanımlık test kartının numune kuyucuna boşaltıldı ve cihazın kart giriş bölümüne yerleştirilerek beş dakika içinde okuma gerçekleştirildi.

İstatistik analiz:

Referans yöntem olarak kabul edilen NFL BN-II (Dade Behring, Almanya) ile diğer yöntemlerle ölçülen CRP düzeyleri arasındaki uyumu (agreement) belirlemek amacıyla grup içi korelasyon katsayısı hesaplandı.

Bulgular

Çalışmada CRP düzeyleri ölçülen 50 hasta serumunun, referans sistem olarak kabul edilen NFL BN-II (Dade Behring, Almanya) ile diğer üç sistemin (NycoCard, QuikRead, i-Chroma) karşılaştırmalı sonuçları tablo 1 ve şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1- İstatistik değerlendirmeye alınan 34 örneğin CRP sonuçlarının gösterimi

Behring Nefelometrik sistem ile serum CRP düzeyleri <3.17 - >203 mg/L aralığında ölçülen 50 örnek, diğer üç sistem ile çalışılarak değişik ölçüm düzeyleri elde edilmiştir. Okuma sınırı dışında kalan 16 örnek istatistik değerlendirme dışı bırakılmış ve bu nedenle 34 hasta üzerinde istatistik analiz yapılabilmektedir. Buna göre 34 serumun ortalama CRP değerleri Behring, NycoCard, QuikRead ve i-Chroma için sırasıyla; 56.1, 34.5, 70.1 ve 49.9 mg/L olarak bulunmuştur. NycoCard, QuikRead, i-Chroma yöntemleri için referans sistemden yüzde olarak ortalama farklılık ise, sırasıyla % -39.2, % 24.5 ve % -22.8 olarak bulunmuştur. NycoCard sisteminin CRP düzeylerini nefelometrik yöntemle göre daha düşük okuduğu gözlenmişken, QuikRead sisteminin bir örnek dışında sürekli daha yüksek okuduğu gözlenmiştir. i-Chroma sisteminin ise 70 mg/L düzeyine kadar nefelometreden daha düşük düzeyde okuduğu, CRP düzeyleri 90 mg/L düzeylerinde iken nefelometrik sonuçlara yakın sonuç verdiği ve bu düzeyin üstündeki değerlerde yüksek okuma yaptığı gözlenmiştir. Nefelometrik yöntem ile diğer üç sistem arasındaki uyum (agreement) sırasıyla, QuikRead için % 91, i-Chroma için % 86.4 ve NycoCard için % 66 olarak bulunmuştur. Referans alınan sistem ile korelasyon ise sırasıyla QuikRead için % 99.5, NycoCard için % 98.3 ve i-Chroma için % 86.4'tür. İstatistik olarak nefelometrik referans yöntemle diğer üç yöntem arasındaki uyum (agreement) %1 düzeyinde olduğu için anlamlı olarak bulunmuştur.

Tablo 1: Behring nefelometre sonuçlarının üç mikro-CRP sonuçları ile karşılaştırılması

Sıra no	NFL BN II	Nycocard	%	QuikRead	%	i-Chroma	%
1	16,2	9	-44,4	15	-7,4	9,6	-40,7
2	17,7	10	-43,5	20	13,0	10,1	-42,9
3	18,9	10	-47,1	27	42,9	10,8	-42,9
4	19,0	11	-42,1	20	5,3	14,8	-22,1
5	21,6	14	-35,2	28	29,6	11,0	-49,1
6	24,0	15	-37,5	28	16,7	15,5	-35,4
7	24,1	15	-37,8	32	32,8	25,2	4,6
8	25,6	16	-37,5	38	48,4	13,1	-48,8
9	27,4	15	-45,3	31	13,1	15,9	-42,0
10	28,0	17	-39,3	36	28,6	18,6	-33,6
11	30,0	17	-43,3	36	20,0	21,9	-27,0
12	33,5	19	-43,3	41	22,4	19,3	-42,4
13	34,5	20	-42,0	40	15,9	23,4	-32,2
14	34,8	21	-39,7	44	26,4	25,8	-25,9
15	37,0	23	-37,8	51	37,8	21,7	-41,4
16	37,0	19	-48,7	49	32,4	21,6	-41,6
17	39,9	26	-34,8	52	30,3	24,2	-39,4
18	50,0	32	-36,0	67	34,0	32,2	-35,6
19	52,6	35	-33,5	58	10,3	31,0	-41,1
20	54,3	34	-37,4	74	36,3	31,6	-41,8
21	56,8	33	-41,9	69	21,5	26,8	-52,8
22	62,5	38	-39,2	71	13,6	35,1	-43,8
23	68,2	38	-44,3	85	24,6	38,3	-43,8
24	68,7	44	-36,0	92	33,9	62,2	-9,5
25	72,0	60	-16,7	90	25,0	62,7	-12,9
26	83,0	49	-41,0	104	25,3	73,0	-12,0
27	88,4	50	-43,4	108	22,2	76,8	-13,1
28	89,8	65	-27,6	109	21,4	87,2	-2,9
29	93,0	56	-39,8	112	20,4	96,8	4,1
30	103,0	69	-33,0	143	38,9	197,9	92,1
31	110,0	64	-41,8	140	27,3	121,7	10,6
32	121,0	74	-38,8	155	28,1	155,5	28,5
33	130,0	79	-39,2	159	22,3	132,8	2,2
34	134,0	75	-44,0	160	19,4	133,5	-0,4
35*	126,0	76	-39,7	>160	-	137,5	9,1
36*	139,0	76	-45,3	>160	-	145,7	4,8
37*	146,0	85	-41,8	>160	-	147,1	0,8
38*	148,0	93	-37,2	>160	-	263,5	78,0
39*	152,0	87	-42,8	>160	-	184,2	21,2
40*	156,0	87	-44,2	>160	-	163,7	4,9
41*	170,0	92	-45,9	>160	-	264,1	55,4
42*	178,0	103	-42,1	>160	-	195,1	9,6
43*	196,0	108	-44,9	>160	-	>300	-
44*	198,0	116	-41,4	>160	-	>300	-
45*	<3,17	5	-	<8	-	<2,5	-
46*	>203	65	-	>160	-	Çalışılmadı	-
47*	>203	110	-	>160	-	245,6	-
48*	>203	121	-	>160	-	130,2	-
49*	>203	128	-	>160	-	>300	-
50*	>203	130	-	>160	-	113,3	-

Tablo 2. Referans yöntemle diğer üç sistemin uyum ve korelasyon yönünden karşılaştırılması

		NycoCard (%)	QuikRead (%)	i-Chroma (%)
Behring Nefelometre	Uyum	66,0	91,0	86,43
	Korelasyon	98,3	99,5	91,60

Tartışma

CRP ölçümü için basit ve hızlı yöntemler, point-of-care testleri olarak anılmakta olup bazı Avrupa ülkelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (15). Bu testlerin CRP ölçümü doğruluğunun gösterilmesi için çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan, Zecca ve ark. (16) tarafından yapılan ve NycoCard ile QuikRead sisteminin karşılaştırıldığı bir çalışmada özgüllük ve duyarlılık değerleri QuikRead ve NycoCard için sırasıyla % 80.5 ve % 83.3 ile % 97.2 ve % 94.4 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada yöntemler arasındaki uyum yüksek bulunmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Monteny ve ark. (17), NycoCard ve QuikRead yöntemlerini standart yöntem olarak turbidimetrik yöntemle karşılaştırdıkları çalışmalarında CRP düzeyleri açısından ortalama farkı sırasıyla 0.6 ve -6.1 olarak bulmuşlardır. Çalışmada sonuç olarak NycoCard sistemi, hızlı CRP ölçümü için daha uygun bir sistem olarak bildirilmiştir.

Esposito ve ark. (18), QuikRead yöntemini değerlendirdikleri bir çalışmada CRP değerlerinin benzer dağılım gösterdiklerini bildirmişler, QuikRead ve standart yöntem için ortalama değerleri 33.3 mg/L ve 34.7 mg/L, okuma aralıklarını ise <8-196 mg/L ve 4-199 mg/L olarak vermişlerdir. Yapılan istatistik değerlendirmede aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (p=0.779).

Bizim çalışmamızda her üç sistem için uyum yüksek olarak bulunmuş olup NycoCard ve QuikRead için yapılan çalışmalardan alınan sonuçlarla uyumludur. Literatür taramasında i-Chroma yöntemini konu alan herhangi bir yayına rastlanmadığından sadece bu çalışma sonucu verilmiş ve diğer çalışmalarla karşılaştırma yapılamamıştır. Çalışmamızda i-Chroma yönteminin standart turbidimetrik sistem ile uyumu % 86.4 olarak saptanmış olup bu sonuçla uyum açısından QuikRead sisteminden sonra ikinci sırada yer almaktadır.

Standart nefelometrik bir yöntem olan Behring sisteminin kapalı olduğu akşam saatlerinde, hafta sonlarında yada yenidoğanlarda olduğu gibi serumun ayrılmayacağı miktarda az alınan kan örnekleri ile çalışılması gereken durumlarda, basit ve hızlı mikro-CRP yöntemlerinin kullanımı CRP ölçümünde kolaylıklar sağlamaktadır. Fakat hasta sonuçları değerlendirilirken hangi sistem ile çalışılmışsa hastaya ait CRP düzeylerinin sürekli aynı sistemle ölçülerek değerlendirilmesi gerektiği unutulmamalıdır.

Çalışmada en yüksek uyum, %91 oranı ile QuikRead için bulunmuş ancak okuma sınırının 8-160 mg/L arasında olması ve bu değerlerin üstü yada altındaki CRP değişimlerinin ölçülememesi bu sistemin dezavantajı olarak değerlendirilmiştir. Karşılaştırdığımız sistemlerden okuma sınırı aralığı 2.5-300 mg/L ile en geniş olarak i-Chroma sisteminde bulunmaktadır. Okuma sınırı NycoCard için tam kan örneklerinde 8-250 mg/L, serum ve plazmada ise 5-150 mg/L arasında bulunmaktadır.

Çalışma için gereken örnek çeşitliliği ve miktarları açısından karşılaştırma yapıldığında, NycoCard 5 µl, QuikRead 20 µl, i-Chroma ise tam kan örneklerinde 20 µl, serum ve plazmada 10 µl örnekle çalışılabilmektedir. Çalışma prosedürleri yönüyle, NycoCard sisteminin daha pratik ve kolay uygulanabilir bir çalışma prosedürüne sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Çok fazla serum örneğinin çalışılması gereken durumda çalışma prosedüründeki bu avantajın laboratuvar personelinin rahatlatacağı ve test sonucunun hızlı ve doğru biçimde alınarak sisteme katkı sağlayacağı söylenebilir.

Sonuç olarak; her üç sistemin de birbirine farklı yönlerde üstünlükleri bulunmaktadır. Bu nedenle mikro-CRP ölçüm sistemlerinin seçiminde her laboratuvarın yukarıda bahsedilen hususları göz önünde bulundurarak önceliklerine göre seçim yapması, klinisyenlere bildirilen CRP düzeyleri sonuçlarının hangi yöntemle çalışıldığını bildirilmesi, hastaların izlenmesinde CRP ölçümlerinin her zaman aynı yöntemle ölçülmesine dikkat edilmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Thompson D, Pepys MB, Wood SP. The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. *Structure* 1999; 7: 169-177.
2. Tillet WS, Francis T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of the Pneumococcus. *J Exp Med* 1930; 52: 561-571.
3. Volanakis JE, Kaplan MH. Specificity of C-reactive protein for choline phosphate residues of pneumococcal C-polysaccharide. *Proc Soc Exp Biol Med* 1971; 136: 612-614.
4. Szalai AJ. The biological functions of C-reactive protein. *Vasc Pharmacol* 2002; 39: 105-107.
5. Moshage H. Cytokines and the hepatic acute phase response. *J Pathol* 1997; 181: 257-266.

6. Tünger Ö. Sepsisin tanı ve izleniminde prokalsitonin, CRP ve diğer göstergeler. KLİMİK Derg 2007; 20: 146-149.
7. Işıklar ÖÖ, Başol G, Barutçuoğlu B ve ark. Yüksek duyarlıklı C-reaktif proteini akılcı kullanıyor muyuz? Türk Klin Biyokim Derg 2007; 5: 27-32.
8. Meier-Ewert HK, Ridker PM, Rifai N, Price N, Dinges DF, Mullington JM. Absence of diurnal variation of C-reactive protein concentrations in healthy human subjects. Clin Chem 2001; 47: 426-430.
9. Ledue TB, Rifai N. Preanalytic and analytic sources of variations in C-reactive protein measurement: implications for cardiovascular disease risk assessment. Clin Chem 2003; 49: 1258-1271.
10. Üçer E. Yüksek duyarlıklı C-reaktif proteinin (hs-crp) romatizmal mitral stenozlu sinüs ritmindeki hastalarda gelişen asemptomatik atriyal fibrilasyon ve atriyal taşiaritmi ataklarını öngörmedeki rolü. Kardiyoloji Uzmanlık Tezi, İstanbul: Dr. Siyami Ersek Göğüs, Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2006.
11. Roberts WL, CDC, AHA. CDC/AHA Workshop on markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: laboratory tests available to assess inflammation, performance and standardization: a background paper. Circulation 2004; 21: 572-576.
12. Altekin E, Önvural B. Kardiyovasküler hastalıklarda bir risk faktörü olarak C-reaktif proteinden yararlanım. Türk Klin Tıp Bil Derg 2004; 24: 57-61.
13. Ledue TB, Weiner DL, Sipe J, Poulin SE, Collins MF, Rifai N. Analytical evaluation of particle-enhanced immunonephelometric assays for C-reactive protein, serum amyloid A, and mannose binding protein in human serum. Ann Clin Biochem 1998; 35: 745-753.
14. Dahler-Eriksen BS, Lassen JF, Petersen PH, Lund ED, Lauritzen T, Brandslund I. Evaluation of a near-patient test for C-reactive protein used in daily routine in primary healthcare by use of difference plots. Clin Chem 1997; 43: 2064-2075.
15. Melbye H, Stocks N. Point of care testing for C-reactive protein - a new path for Australian GPs? Aust Fam Physician 2006; 35: 513-517.
16. Zecca E, Barone G, Corsello M, Romagnoli C, Tiberi E, Tirone C, Vento G. Reliability of two different bedside assays for C-reactive protein in newborn infants. Clin Chem Lab Med 2009; 47: 1081-1084.
17. Monteny M, ten Brinke MH, van Brakel J, de Rijke YB, Berger MY. Point-of-care C-reactive protein testing in febrile children in general practice. Clin Chem Lab Med 2006; 44: 1428-1432.
18. Esposito S, Tremolati E, Begliatti E, Bosis S, Gualtieri L, Principi N. Evaluation of a rapid bedside test for the quantitative determination of C-reactive protein. Clin Chem Lab Med 2005; 43: 438-440.

Sorumlu Yazar: Dr. Mehmet Parlak
Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji A.D. 65100 Van-TÜRKİYE
Tel: 0 (432) 216 47 11 - 60 02
E-mail: mehmetparlak65@hotmail.com

Değişik Kaynaklardan İzole Edilen *Mycobacterium bovis* Suşlarının Moleküler Tiplendirilmesi

Molecular Typing of Mycobacterium bovis Strains Isolated from varied origins

İsmail CEYHAN¹, Gülnur TARHAN², Hakan YARDIMCI³

¹Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanı, Dr. Refik Saydam Hıfızısıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara - TÜRKİYE

²Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kırşehir - TÜRKİYE

³Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 13.09.2010

Kabul Tarihi: 22.11.2010

Özet

Mikroorganizmalar, salgınların izlenmesi, epidemiyolojik analizler veya laboratuvar çapraz kontaminasyonlarının belirlenmesi amacıyla moleküler yöntemler kullanılarak tiplendirilmektedirler. *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC) içerisinde yer alan suşların genotipik ayrımı çoğu zaman zor ve/veya zaman alıcı yöntemlere dayanmaktadır. Çalışmada değişik kaynaklardan izole edilen *Mycobacterium bovis* suşlarının genotiplendirilmesinde iki basit PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) yönteminin rutin kullanıma uygunluğu araştırılmıştır. *M. bovis* hem insanlarda hem de hayvanlarda tüberküloz hastalığına sebep olan önemli bir kompleks üyesidir. Tiplendirme yönteminden biri IS6110 elementine yönelik özgül ters yön tek yön primerin kullanıldığı OUT-PCR diğeri ise Gram negatif bakterilerin genomunda bulunduğu saptanan bölgeye özel ERIC (enterobacterial repetitive intergenic consensus) primerlerinin seçildiği ERIC-PCR yöntemidir. Çalışmada Ankara ve çevre illerde 16'sı sığırlardan 5'i ise insanlardan izole edilen toplam 21 *M. bovis* suşu tiplendirilmiştir. ERIC-PCR yönteminin ayırım yapmada yetersiz kaldığı buna karşın OUT-PCR yönteminin farklı kökenleri kolaylıkla ayırabildiği saptanmıştır. OUT-PCR yönteminin kolay uygulanabilen, hızlı veya laboratuvar kaynaklı çapraz kontaminasyonların saptanmasında yararlı olacağı ancak epidemiyolojik çalışmalarda tek başına kullanılamayacağı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: ERIC-PCR; moleküler tiplendirme; *mycobacterium bovis*; OUT-PCR; PCR

Abstract

Microorganisms are being performed molecular typing for outbreak investigations, epidemiological analysis or to be determined laboratory cross contaminations. Discriminative genotyping for member of *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC) mostly depend on time consuming and/or difficult methods. In this study, it has been evaluated for the appropriateness of rutin applications of two different easy to use PCR (polimerase chain reaction) methods in the genotyping of *Mycobacterium bovis*. *M. bovis* is a pathogenic strain for animals and humans and one of the important complex member. One of the PCR based typing methods is OUT-PCR that is specific for amplifying IS6110 in using outward direction primer (OUT-primer), other is ERIC-PCR. ERIC (enterobacterial repetitive intergenic consensus) is specific genomic sequence which was found in Gram negative bacterial genom. Totally 21 *M.bovis* strains has been typed. Of 16 strains were isolated from cattle while the others were from humans. ERIC-PCR was found non-discriminative, not useful for determining genetic diversity and non-rapid screening. OUT-PCR is was found easy to use for typing and rapid screening of *M. bovis* strains. However, both of the methods couldn't be applied alone to study of the wide range epidemiological analysis.

Key Words: ERIC-PCR; Molecular typing; *Mycobacterium bovis*; OUT-PCR; PCR

Giriş

Tüberküloz (TB) insan ve hayvanlarda özellikle *Mycobacterium tuberculosis* ve *M. bovis* suşları tarafından oluşturulan enfeksiyöz bir hastalıktır (1,2). Yaygın olarak görülen TB'un, dünya nüfusunun üçte birini enfekte ederek, yılda 1.300.000 kişinin ölümüne neden olduğu tahmin edilmektedir (3). Hastalığın zoonotik olduğu uzun zamandır bilinmektedir (4-6). Ancak bu hususta az sayıda çalışma yapılmıştır (1).

İnsan ve hayvanlarda tüberküloz etkenleri MTBC içersinde toplanmıştır. Kompleks içinde *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* ve *M. microti* olmak üzere 4 tür tanımlanmıştır (7). Ancak son zamanlarda bazı kaynaklar bunlara ilaveten aşı suşu *M. bovis* ile birlikte, *M. caprae*, *M. cannetti*, *M. pinnipedii*'yi de bu gruba dahil etmektedirler (2).

Mikobakterilerin tür tayini amacıyla kullanılacak 20'den fazla biyokimyasal test olmasına rağmen *M. bovis*'in, *M. tuberculosis* ile *M. africanum*'dan ayırımında yararlı olan nitrat indirgemesi, tiofen-2-karboksilik asite (TCH) ve pirazinamidaza duyarlılık gibi sadece birkaç test vardır. Ayrıca tür ayırımında kullanılan bu yöntemlerin zaman alıcı ve genellikle kesin sonuç alınması zor olması gibi dezavantajları bulunmaktadır (8,9). Bu nedenle daha duyarlı, özgül, güvenilir, hızlı ve kolay yöntemler araştırılmakta ve suşlar arası klonal ilişkiyi de ortaya koyacak moleküler yöntemler denenmektedir (10-15). Son birkaç on yıldır hem tanıda, hem ilaç direncinin saptanmasında, hem tür tayininde hem de epidemiyolojik çalışmalarda biyomoleküler yöntemler umut verici biçimde kullanılmaktadır (16,17).

Moleküler epidemiyoloji, enfeksiyon hastalıklarının kaynağı ve patogenezen sorumlu genlerin saptanması, potansiyel genetik ve çevresel risk faktörleri, enfeksiyon hastalıklarının sınırlı topluluk içi veya toplumlar arasında kaynaklar ve yayılma yolları üzerinde durur (16,18). Genel olarak salgın izolatları klonal olarak ilişkilidirler, yani ortak kaynaktan kök alırlar. Klonal ilişkili mikroorganizmalar, ortak virülans faktörlerini, biyokimyasal özellikleri ve genetik karakterleri paylaşan, aynı türün üyeleri olarak kabul edilirler. Bu bilgiler hastanın tedavisinde olduğu kadar salgın kontrolünde de oldukça önem kazanmıştır (18). MTBC birçok farklı genetik marker kullanılarak tiplendirilebilmektedir. Birbirlerine olan az ya da çok üstünlükleriyle beraber IS6110 restriction fragment length polymorphism (RFLP), Spoligotyping ve variable numbers of tandem repeat (VNTR) başta olmak üzere, fluorescent amplified fragment length polymorphism (FAFLP) single nucleotide polymorphisms (SNPs) sayılabilir. Bu yöntemlerden IS 6110 RFLP uluslararası standart olarak kabul edilmektedir. Ancak bu yöntemlerin çoğu yavaş bir ölçüde uy-

gulaması zor ve iyi bir laboratuvar alt yapısı ile pahalı cihaz ve sarf gerektirmektedir(12). Bu nedenle PCR tabanlı kısa zamanda ve yüksek güvenilirlikte alt-tiplendirme yapılabilen bazı tiplendirme yöntemleri geliştirilmiştir(12,19).

Bu çalışmada Sechi'nin ERIC-primerlerini (20) ve Gutierrez'in IS6110'a özgü tek ters primeri (21) ile kromozomal DNA tiplendirmen PCR tabanlı yöntemler kullanılmıştır. ERIC-PCR, RFLP ile ayırımı yapılamayan bazı suşların ayırımını yapabildiği bakımından yararlı bulunmuştur (20). Out-PCR yöntemi de benzer şekilde hızlı ve kolay bir yöntem olarak tarif edilmiş olup RFLP ile aynı ayırım gücüne sahip olduğu saptanmıştır. Ayrıca az miktarda DNA'ya gerek göstermesi ve direkt olarak klinik örneklerden bile çalışılabilmesi diğer klasik RFLP tiplemelerine göre ayrı bir üstünlüğünün olduğunu ortaya koymuştur (21).

Bu çalışmada, insan ve hayvan tüberküloz vakarlarından izole edilen *M. bovis* suşlarının moleküler tiplendirilmesi amacıyla ERIC-PCR ve OUT-PCR yöntemlerinin rutin laboratuvar uygulamalarına uygun olup olmadığı araştırılmıştır.

Materyal ve Metod

Bu çalışmada Ankara çevre ilçeleri ve illerinde, 1999-2003 yıllarında sığır tüberkülozu şüpheli hayvanların organlarından izole edilen 16 adet *M.bovis* suşu ile Ankara Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarında 2000-2003 yıllarında izole ve identifiye edilen ikisi akciğer tüberkülozu beş insan kaynaklı *M.bovis* suşu tiplendirilmiştir. İnsan kaynaklı suşların üç'ü lenfadenit vakalarından izole edilmiş *M. bovis* (BCG) olarak tanımlanmıştır. Bunlardan ikisi farklı tarihlerde bir lenfadenit vakasından elde edilen aynı kişiye ait suş diğeri ise diğeri ise farklı bir kişiden izole edilmiştir. Çalışmada Sechi ve arkadaşlarının tarif ettiği şekilde ERIC-PCR testi için; ERIC1R(Tb-2) 5' ATG TAA GCT CCT GGG GAT TCA C ve ERIC2(Tb-3) AAG TAA GTG ACT GGG GTG AGC G (İontek-Bursa) kullanılmıştır.

Buna göre; 50 µl final hacim-karışım içinde; 10x Taq PCR Buffer (500mM KCl, 100mM Tris-HCl, pH:8.3) 5µl, Master AmpTM, 10x PCR Enhancer 5µl (Epicenter, Technologies), MgCl2 (25mM) 3µl, dNTP(mix-2mM) 5µl, Primer ERIC1R(87pmol/µl) 0,75µl, ERIC2 (73pmol/ µl) 0,9 µl ve Taq polimerase 1U (0.2 µl) olacak şekilde Ependorf (1,6ml'lik tüp) içinde Master-mix hazırlanmış ve 40 µl ince duvarlı PCR (steril PCR tüpü, 0,2ml, RNase-DNase free/Biozym) tüplerine dağıtılmıştır. Üzerine 10 µl kalıp DNA ilave edilerek Ependrof marka termal cyclers da önce iki dakika 94°C tutulduktan sonra 45 saniye 94°C, 1 dakika 52°C ve 10 dakika 70°C de 35 döngü olarak amplifiye edilmiş, final ampilifikasyon 70°C de 20 dakika olarak tamamlanmıştır.

OUT-PCR için Gutierrez ve arkadaşları tarafından bildirilen yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemde GAC III CCG GGG CGG TTC A , (I:Inosine) (İontek, Bursa 2002) oligonükleotit baz dizilimine sahip tek primer kullanılmıştır. Yöntem laboratuvar koşullarımızda modifiye edilerek standardize edilmiştir. Buna göre PCR karışımı 50µl final hacim-karışım içinde, 10x Taq PCR Buffer 5µl , 10x PCR enhancer 5µl, MgCl2 (25mM) 3µl, dNTP(mix-2mM) 5µl, Primer (Tb-1)(62pmol/) 1.0, ve Taq polimerase 1U (0.2 µl) olacak şekilde Master-mix hazırlanmış ve 40 µl PCR tüplerine dağıtılmıştır. Üzerine 10µl kalıp DNA ilave edilerek Ependrof marka termal cyclers da 3 dakika 94°C tutulduktan sonra 1 dakika 94°C, 1 dakika 62°C ve 1 dakika 72°C de 40 döngü amplifiye edilmiştir.

ERIC-PCR ürünleri için %1,8 agaroz jel ve OUT-PCR ürünleri için %1,4 agaroz jel kullanılmış ve 110 voltta 40 dk elektroforez işlemine tabii tutulmuştur. Elektroforez sonucu elde edilen Jel doğrudan UVI tec cihazında görüntülenmiş ve UVI soft, UVI band, Windows Application V99.06 (BioRad, England) programında analiz edilmiştir. ERIC-PCR ürünleri duyarlılığı arttırmak amacıyla ayrıca %12 poliakrilamid jelde de 90 V elektroforeze 100-120 dakika tabii tutulmuştur. Jel etidyum bromid ile 30-45 dakika boyanarak görüntülenmiştir.

Bulgular

ERIC-PCR yöntemiyle çalışılan 21 adet suşun agaroz jel elektroforezinde 2-3 bant patern ve poliakrilamid jel elektroforezinde ise 6-7 bant patern elde edilmiştir. Her iki elektroforez sonucunda da suşlar 2 grupta toplanmış ancak bu oluşturulan gruplar suşlar arasındaki ayırım derecesini belirlemeye yeterli olmamıştır. OUT-PCR yönteminde ise 4 ana grup ve gruplandırılmayan ancak birbirleriyle belirli ölçüde ilişkileri olan 8 adet özel suş saptanmıştır (%2,5 conf. Jaccard). Birbirleriyle genotipik olarak %100 uyumlu olanlar aynı grupta toplanmıştır. *M.bovis* (BCG) suşları birbirleriyle %100 uyumlu olarak aynı grup içinde yer almışlar ve diğer insan suşlarıyla uzak oldukları saptanmıştır. İnsanlardan izole edilen diğer iki suşun hayvan suşlarıyla genetik yakınlığı sırasıyla %50 ve %60 arasında olduğu bulunmuştur.

Gruplar bilinen epidemiyolojik verileri ile birlikte değerlendirildiğinde ERIC-PCR yönteminin standardizasyonu zor ve yeterli ayırım yapamadığı, OUT-PCR yönteminin ise kolay uygulanabilen ve az sayıdaki suşların tiplendirilmesinde programa gerek duyulmadan farklılıkları ortaya koyulabilmesi açısından yeterli bulunmuştur. Fazla sayıdaki suşun yakınlık derecesi için program gereklidir.

Tartışma

Mycobacterium tuberculosis complex'in moleküler yöntemlerle tiplendirilmesi tanı, ilaç duyarlılık genlerinin saptanması (16) dışında özellikle ulusal düzeyde epidemiyolojik çalışmalar, yerel salgınlarda kaynak ve bulaş izlen-

mesi ile laboratuvar çapraz kontaminasyonlarının belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır (24). IS6110 RFLP yöntemi *Mycobacterium tuberculosis*'in genotiplendirilmesi amacıyla oldukça yaygın olarak kullanılan ve büyük ölçüde standardize edilmiş ve uluslararası standart bir yöntem olarak kabul edilmiştir (12). *Mycobacterium bovis* için ise daha çok Spoligotyping (Spacer oligonucleotide typing) tercih edilmektedir (22). Ancak spoligotyping yöntemi ucuz, kolay ve türler arası genetik varyasyonu ortaya koyabilmesine rağmen teknik ekipmana ihtiyaç duyması ve Beijing (Pekin) suşları gibi geniş aileye ait suşların ayırımında yetersiz kalması gibi dezavantajları vardır (23). Bir epidemiyolojik çalışmada, salgın analizinde veya laboratuvar çapraz kontaminasyonun belirlenmesinde ideal olarak kullanılacak tek bir moleküler yöntem bulunmamaktadır. Çoğu zaman birden fazla yöntem amaca uygun olarak seçilerek kullanılmaktadır. Bu konudaki kapsamlı bir değerlendirme çalışmasında aşağıdaki şu algoritma önerilmiştir: Ulusal veya uluslararası moleküler tiplendirme çalışmalarında önce IS6110 temelli tiplendirme yöntemi kullanılmalı, az sayıda kopya saptandığında polimorfik GC-rich repetitive sequence (PGRS) yöntemi uygulanmalıdır. Fazla sayıda kopya varlığında ise doğrudan veya PGRS sonrasında genetik analiz yapılmalıdır. Yerel salgın ya da laboratuvar kontaminasyonu çalışmalarında ise önce Spoligotyping veya variable numbers of tandem repeats/mycobacterial interspersed repetitive (VNTR/MIRU) yapılması eşleşme varsa IS6110 yöntemleri kullanılması önerilmiştir (24).

Salgın araştırılması ve epidemiyolojik analizler kadar laboratuvar içi çapraz kontaminasyonlar da modern tüberküloz laboratuvarlarının önemli bir problemidir (24-26). PCR tabanlı çalışmaların ucuz, kolay uygulanabilir ve yeterli ayırım sağlamaları açısından *M. tuberculosis complex* suşlarında yararlı olduğu bilinmektedir(12). Ayrıca yorumlama kolaylığı olan yöntemlerin özellikle bir avantaj olabileceği belirtilmektedir (13).

Çalışmamızda iki farklı PCR tabanlı yöntem araştırılmıştır. ERIC-primerleri kullanılarak yapılan kromozomal DNA tiplendirmesi laboratuvar standardizasyonun zor ve ayırım gücünün sınırlı olduğu buna karşılık OUT-PCR yönteminin hızlı, kolay ve yeterli ayırım gücüne sahip olduğu bulunmuştur. OUT-PCR yöntemi az sayıdaki suş için bilgisayar programına gerek duyulmadan yorumlanması ve klonal özelliklerinin ortaya konulmasında yardımcı olduğu saptanmıştır. Bu yöntem bu güne kadar özellikle *M. tuberculosis* suşlarının laboratuvar içi çapraz kontaminasyonlarının varlığını göstermesi açısından son derece yararlı biçimde Ulusal Tüberküloz Referans laboratuvarında rutin olarak kullanılmaktadır (27,28). Bununla birlikte PCR tabanlı yöntemlerinin tek başına kullanılmamasının önerildiği birçok epidemiyolojik çalışmada olduğu gibi bizim çalışmamızda bu yargının geçerli olduğu göstermiştir. Ay-

rica bu çalışmamızın hem tekrarlanabilirlik hem de ayırım gücü bakımından daha standart bir yöntem veya yöntemlerle karşılaştırılmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Cataldi A, And Romano MI. Tuberculosis caused by other Members of the *M. tuberculosis* complex. In: Palomino JC, Leão SC and Ritacco V (eds), Tuberculosis 2007: From basic science to patient care. First edition. TuberculosisTextbook.com. 2007: 283-315.
2. Kazda J and Pavlik I. Obligate Pathogenic *Mycobacteria*. In: Kazda J, Pavlik I, Falkinham III JO, Hruska K (Eds). The Ecology of *Mycobacteria*: Impact on Animal's and Human's Health, Second edition, London New York, Springer Dordrecht Heidelberg 2009:13-19.
3. World Health Organization (WHO). WHO Fact sheet No:104 Revised 2010. Erişim tarihi: 04 Eylül 2010. Erişim: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/index.html>
4. Arda M, Aydın N, Ilgaz A, Minbay A, Kahraman M, İzgür M, Leloğlu N, Akay Ö, Diker KS. Özel Mikrobiyoloji. 4.baskı. Medisan, Ankara. S.179-202. 1997.
5. Cosivi O, Grange JM, Dabaron CJ, Raviglione MC, Fujikura T, Cousins D, Robinson RA, Huchzermeyer HFAK, De Kantor I and Meslin FX. Zoonotic Tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in Developing Counties. Emerg Infect Dis., 1998 1:59-70.
6. Biet F, Boschirolu ML, Thorel MF, Guilloteau LA. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC). Vet. Res. 2005, 36:411-436.
7. Nolte FS, 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 Press. 1994:400-437.
8. Grange JM, Yates MD and de Kantor IN. Guidelines for speciation within the *Mycobacterium tuberculosis* complex. Second edition. Erişim tarihi: 04 Eylül 2010. Erişim : <http://whqlibdoc.who.int/hq/1996/WHO EMC ZOO 96.4.pdf>
9. Kent PT, and Kubica GP. Public Health Mycobacteriology, A Guide For The Level III Laboratory. Centers for Disease Control. Atlanta. Georgia.1985.
10. Richter E, Weizenegger M, Rusch-Gerdes S and Niemann S. Evaluation of genotype MTBC assay for differentiation of clinical *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates. J. Clin. Microbiol. 2003. 41:2672-2675.
11. Kazda J, The Chronology of *Mycobacteria* and the Development of Mycobacterial Ecology. In: Kazda J, Pavlik I, Falkinham III JO, Hruska K (Eds). The Ecology of *Mycobacteria*: Impact on Animal's and Human's Health, Second edition, London New York, Springer Dordrecht Heidelberg. 2009. P1-11.
12. Kremer K, Arnold C, Cataldi A, Gutierrez MC, Haas WH, Panaiotov S, Skuce RA, Supply P, van der Zanden AGM and van Soolingen D. Discriminatory Power and Reproducibility of Novel DNA Typing Methods for *Mycobacterium tuberculosis* complex Strains. J. Clin. Microbiol. 2005, p. 5628-5638
13. Olive DM and Bean P,(1999) Principles and Applications of Methods for DNA-Based typing of Microbial Organisms. J Clin Microbiol, 37:1661-1669.
14. Durmaz R. *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının genotiplendirilmesi: IS6110 ve pTBN12-Fingerprinting. In: Uygulamalı Moleküler

Mikrobiyoloji. Ed.: R. Durmaz, 2.Baskı Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. İstanbul. 2001. 181-200.

15. Pfaller MA. Molecular approaches to diagnosing and Managing Infectious Diseases: Practicality and Costs. Emerg Infect Dis., 2001. 2:312-318.
16. Palomino JC. Molecular detection, identification and drug resistance detection in *Mycobacterium tuberculosis*. FEMS Immunol Med Microbiol. 2009 Jul;56(2):103-11
17. Palomino JC. Newer diagnostics for tuberculosis and multi-drug resistant tuberculosis. Curr Opin Pulm Med. 2006. 12(3):172-8.
18. Durmaz R. Moleküler Epidemiyolojinin Prensipleri, In: Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji. Ed.: R. Durmaz, 2.Baskı Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. İstanbul. 2001:139-147.
19. Yağcı A, Restriction Fragment Length Polymorphism Ve Polimeraz Zincir Reaksiyon Bazlı Tipleme Yöntemleri. In: Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji. Ed.: Durmaz R, İ.Ü. Tıp Fak. Malatya. 2001. 149-160
20. Sechi LA, Zanetti S, Dupre I, Delogu G and Fadda G. Enterobacterial repetitive intergenic consensus sequences as molecular targets for typing of *Mycobacterium tuberculosis* strains. J. Clin. Microbiol. 1998. 36:128-132.
21. Gutierrez M, Samper S, Gavigan JA, Marin JFG and Martin C. Differentiation by Molecular Typing of *Mycobacterium bovis* Strains Causing Tuberculosis in Cattle and Goats. J Clin Microbiol. 1995.11:2953-2956.
22. De Lisle W, Bengis RG, Schmitt SM and O'Brien DJ. Tuberculosis in free ranging wildlife: Detection, Diagnosis and Management. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 2002. 2:317-334.
23. Driscoll JR. Spoligotyping for molecular epidemiology of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. Methods Mol Biol. 2009;551:117-28.
24. Kanduma E, McHugh TD and Gillespie SH Molecular methods for *Mycobacterium tuberculosis* strain typing: A users guide. J Appl Microbiol 2003, 94, 781-791.
25. Fitzpatrick L, Braden C, Cronin W, English J, Campbell E, Valway S, Onorato I. Investigation of Laboratory cross-contamination of *Mycobacterium tuberculosis* cultures. Clin Infect Dis. 2004. 38(6) 52-54
26. Nivin B, Fujiwara PI, Hannifin J and Kreiswirth BN. Cross-contamination with *Mycobacterium tuberculosis*: an epidemiological and laboratory investigation. Infect Control Hosp Epidemiol. 1998 Jul;19(7):500-3.
27. Ceyhan I, Laboratuvar içi çapraz kontaminasyonlarımız. Basılmamış veriler, 2010.
28. Tarhan G, Ceyhan I, Ocak F. Laboratuvarımızdaki Çapraz Kontaminasyonlara Bağlı Yalancı Kültür Pozitifliklerinin OUT-PCR Yöntemi ile Doğrulanması. P28. 3. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji kongresi 28 Haziran-1 Temmuz 2004 kongre kitabı sayfa 181.

Sorumlu Yazar: Dr. İsmail CEYHAN

Dr. Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı,
Ankara - TÜRKİYE

Tel:0 (312) 458 24 16 E-mail: isceyhan@gmail.com

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji ana bilim dalında doktora tezi olarak yapılmış ve 3. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji kongresinde (28 Haziran-1 Temmuz 2004) poster olarak sunulmuştur.

Choose QIAGEN for your PCR workflow

QIASymphony® SP/AS instruments and Rotor-Gene® Q real-time PCR cycler



- Succeed in your research in virology, bacteriology, and genetics
- Automate sample preparation, assay setup, and PCR analysis
- Standardize your in-house PCR assays with customized protocols
- Use Rotor-Gene and QuantiTect® Virus Kits for ultrafast, reliable results
- Enjoy outstanding thermal uniformity and PCR analysis software

Visit www.qiagen.com/qiasymphony to find out more!

Trademarks: QIAGEN®, QIASymphony®, QuantiTect® (QIAGEN Group); Rotor-Gene® (Corbett Research Pty Ltd).



***Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* Türlerine Ait Klinik İzolatlarda Metallo Beta - Laktamaz Yapımının Farklı Fenotip Yöntemlerle İncelenmesi**

Evaluation Of The Production Of Metallo Beta Lactamase Activity In The Clinical Isolates Of Pseudomonas Aeruginosa And Acinetobacter SPP. Using Different Phenotypic Test Methods

Merih ŞİMŞEK, Nedim SULTAN

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

Geliş Tarihi: 10.08.2010

Kabul Tarihi: 22.11.2010

Özet

Son zamanlarda, bakteriler arasında aktarım yolu ile yayılabilen karbapenemaz enzimlerinin, hem ülkemizde, hem de diğer ülkelerde artan sıklıkta saptandığı görülmektedir. Bu çalışmada, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* suşlarında metallo beta-laktamaz üretim sıklığını araştırmak ve enzim saptamada kullanılan değişik fenotipik yöntemlerin etkinliğinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla çeşitli kliniklerden gelen değişik örneklerden izole edilen ve hastane enfeksiyonu etkeni olduğu belirlenen 78 *P.aeruginosa* ile 54 *Acinetobacter* suşu incelenmiştir. Bu suşlardan imipenem dirençli olduğu saptanan 37 *P.aeruginosa* ile 33 *Acinetobacter* suşunda Modifiye Hodge Testi, Kombinasyon Disk Testi, Çift Disk Sinerji Testi ve Mikrotitrasyon Testleri ile metallo beta-laktamaz enzim varlığı incelenmiştir. Dört farklı test ile *P.aeruginosa* suşlarının % 46 ile % 62, *Acinetobacter* suşlarının ise % 45 ile % 76 oranlarında metallo beta laktamaz yaptığı belirlenmiştir. Modifiye Hodge Testi esas alınarak diğer 4 testin pozitif prediktif değeri, negatif prediktif değeri, özgüllük ve duyarlılık düzeyleri hesaplanmıştır. Hem *P.aeruginosa* hem de *Acinetobacter* suşları için metallo beta-laktamaz yapımının değerlendirilmesinde şelatör varlığında MİK değerinin 8 kat düşmesinin esas alındığı Mikrotitrasyon Testi yönteminin daha duyarlı ve daha özgül olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Pseudomonas aeruginosa*; *Acinetobacter*; metallo beta laktamaz.

Abstract

It is reported that carbapenemase producing isolates are increasing in our country and also in other countries in recent years. The aim of this study is the detection of the metallo beta lactamase production in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* isolates and the evaluation of the efficiency of different phenotypic methods in the detection of this enzymes. We used 128 nosocomial isolates, 74 *P. aeruginosa* and 54 *Acinetobacter*, submitted from various departments of our hospital. The presence of metallo beta lactamase enzymes was examined in 37 imipenem-resistant *P.aeruginosa* isolates and 33 imipenem-resistant *Acinetobacter* isolates by using of Modified Hodge Test, Combined Disc Test, Double Disc Synergy Test and Microtitration Test. From the 47 *P.aeruginosa* isolates, 46% and 62% were found positive in different four methods. The test values for *Acinetobacter* spp. were found between 45% and 76%. The sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of the test methods were calculated based on the Modified Hodge Test. It was concluded that Microtitration Test, in which an eight-fold reduction occurred, in the presence of chelator was more sensitive and specific than the other test methods in the detection of metallo beta lactamase in both *P.aeruginosa* and *Acinetobacter* isolates.

Key Words: *Pseudomonas aeruginosa*; *Acinetobacter*; metallo- beta- lactamase.

Giriş

Bakterilerin, değişik antibiyotiklere farklı mekanizmalar kullanarak direnç geliştirebildiği bilinmektedir. Antibiyotik direnç sorunu, enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde önemli sorunlara neden olmaktadır. Non-fermentatif gram negatif basillerde porin mutasyonuna bağlı antibiyotiklerin hücre içine girememesi yada eflüks pompa sistemindeki mutasyonlara bağlı direnç sık görülmektedir. Bu direnç mekanizmalarının yanında beta laktamaz üretimi de hemen hemen bütün bakterilerde en sık karşılaşılan direnç mekanizmalarından biridir. Penisilinlerin kullanıma girmesinden kısa süre sonra belirlenen beta-laktamaz yapımı her geçen gün çeşitlilik ve spektrum açısından artmış ve yaygınlaşmıştır(1). *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* gibi nonfermantatif gram negatif basiller hastane enfeksiyonlarından her geçen gün daha sık izole edilmektedirler. Bu bakteriler genellikle bir çok antibiyotiğe dirençli olabilmektedirler. Bunlara bağlı gelişen hastane enfeksiyonlarının kontrol altına alınmasında büyük zorluklar yaşanmaktadır. Sahip oldukları değişik antibiyotik direnç mekanizmalarının yanında beta-laktamaz enzimleri de önemli bir direnç mekanizmasıdır. Beta laktamazlar A, B, C ve D grupları içinde incelenmektedir. Metallo beta-laktamazlar bu enzimlerin B grubunda yer almakta ve her geçen gün giderek artan sıklıkta belirlenmektedirler. Bu enzimlerin IMP, VIM, SIM, SPM, GIM tipleri belirlenmiş olup her geçen gün bu tiplere yenileri eklenmektedir(1,2). Bu enzimlerin aktif bölgesinde bir yada iki çinko iyonu bulunmaktadır (3). Bu enzimler, bakterilere aztreonam dışında karbapenemlerde dahil bütün beta laktam antibiyotiklere karşı direnç sağlamaktadır. Bu laktamazların transfer edilebilen plazmidler tarafından da kodlanması, bu özelliğin her gün yeni gram negatif bakteri türlerine ayrıca tür içindeki yeni biyotiplere yayılmasına neden olmaktadır(4). Her yeni yapılan çalışmada bakterilerde bu enzimlerin yapımı daha sık saptanmaktadır. Bu enzimlerin ortaya çıkması hastane enfeksiyonlarının tedavisindeki en önemli sorunlardan biri olarak görülmektedir (5). Bir bakterinin metallo beta-laktamaz yaptığı belirleyen en kesin yöntem bu enzimleri kodlayan genlerin varlığının moleküler yöntemlerle gösterilmesidir(2). Ancak her laboratuarda bu yöntemleri uygulama olanağı bulunmamaktadır ve geniş gösterilen bazı örneklerde enzim yapımı olmayabilmektedir(6). Bu enzim varlığını araştırmak için çeşitli fenotipik yöntemler tanımlanmıştır(7). Her yöntemin kullanım kolaylığı, duyarlılığı ve özgüllüğü açısından avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Farklı şelatörlerin veya farklı karbapenemlerin testte kullanılması veya farklı ortamların kullanılması testin duyarlılığını etkileyebilmektedir(6,7,8,9).

Bu çalışmada hastane enfeksiyonlarına sık olarak neden

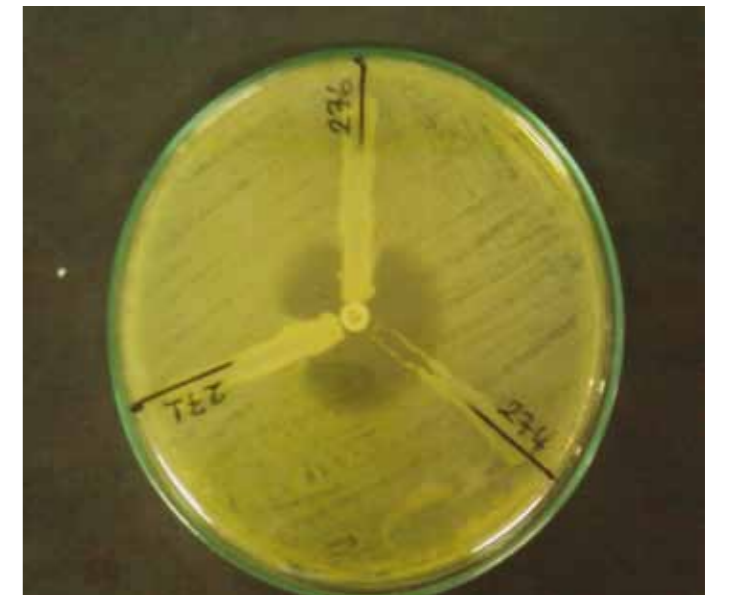
olan *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter* cinsi bakterilerde metallo beta-laktamaz yapım sıklığının incelenmesi ve bu enzim yapımının gösterilmesinde farklı fenotipik yöntemlerin değerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal Ve Metod

Bu çalışmada Mart 2009 ile Haziran 2010 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gelen değişik örneklerden izole edilen ve hastane enfeksiyonu etkeni olduğu hastane enfeksiyon komitesi süreyans çalışmaları sonucu karar verilen 78 *Pseudomonas* ile 54 *Acinetobacter* suşu incelenmiştir. Aynı klinikten gelen ve birden fazla hastada enfeksiyon oluşturan antibiyotik direnç profili aynı olan bakterilerden sadece bir tanesi çalışmaya alınmıştır. Bakterilerin klinik örneklerden izolasyonunda klasik kültür yöntemleri kullanılmış, üreyen bakteriler klasik yöntemlerle tanımlanmış, tanımlanan bakterilerde tanı doğruluğu API 20NE (Biomérieux) kiti ile teyit edilmiştir. Karbapenem duyarlılık testleri CLSI standartlarına uyularak Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır.

Bakterilerde metallo beta laktamaz yapımı dört farklı yöntemle incelenmiştir.

1-Modifiye Hodge Testi (MHT): Bu yöntemde önce *E.coli* ATCC 25922 suşunun 0.5 Mc Farland bulanıklılığına göre ayarlanan süspansiyonu Mueller-Hinton Agar plağına yayıldı. Plağın ortasına 10 µg'lık imipenem diski yerleştirildi. Daha sonra test edilecek bakteri merkezden dışa doğru çizgi ekimi ile plağa ekildi. Bu yöntemle her plakta 3 bakterinin enzim yapımı incelendi. Bir gece inkubasyondan sonra *E.coli* inhibisyon zonunun çizgi ekimi tarafında yonca yaprağı tarzında görülmesi test edilen bakterinin metallo beta-laktamaz yaptığına kanıt olarak kabul edildi (10). (Şekil 1)



Resim 1: Modifiye Hodge Testi ile 271 ve 276 nolu test suşları pozitif sonuç vermiştir.

2-Mikrotitrasyon Testi (MT): Test edilecek bakteri sayısı kadar 96 çukurlu mikropakta imipenemin 512 ile 0.25 µg/ml' lik seri sulandırımı A ve B grubu olacak şekilde 2 defa hazırlandı. A grubundaki plaklara daha sonra her çukurda test edilecek bakterinin Mueller-Hinton Broth'ta ki taze kültüründen final konsantrasyonu 5x10⁴ cfu/ml olacak şekilde bakteri eklendi. B grubundaki plaklardaki her çukura final konsantrasyonları 0.4 mM olacak şekilde EDTA eklendi. Daha sonra bu çukurlara da aynı konsantrasyonda bakteri eklendi. Bir gecelik inkübasyondan sonra her bakteri için şelatörlü (A) ve şelatörsüz (B) MİK değerleri okundu. Şelatör varlığında imipenem MİK değerlerinin şelatör eklenmemiş değerlere göre en az 8 kat ve 16 kat daha küçük saptanan değerler pozitif sonuç olarak kabul edildi.(Şekil 2) MİK değerinde 8 kat (MT8) ve 16 kat (MT16) azalmadan hangisinin test sonucunu daha değerli kılacağı istatistiksel olarak değerlendirildi(11).

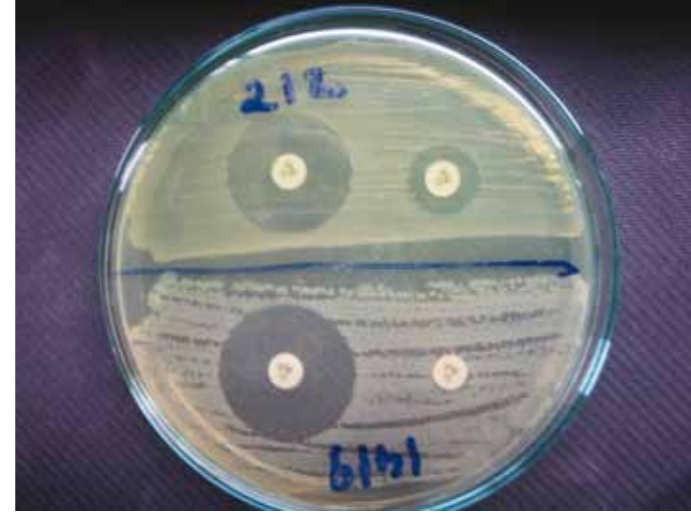
3-Çift disk sinerji testi (ÇDST): Test edilecek bakterinin 0.5 Mc Farland bulanıklılığına göre hazırlanmış süspansiyonu Mueller-Hinton Agar plağına yayıldıktan sonra 10 µg' lık imipenem diski ve bu diske 20 mm uzaklıkta bir boş disk yerleştirilmiştir. Daha sonra boş diske 10 µl 0.5 M EDTA damlatılmıştır. Bir gecelik inkübasyondan sonra imipenem diski çevresindeki inhibisyon zonunun EDTA'lı diske doğru genişlemesi pozitif test sonucu olarak kabul edildi(7). (Şekil 2)



Resim2: Çift Disk Sinerji Testinde İmipenem ve EDTA diskleri çevresindeki zonun karşılaştığı genişlediği görülmüyor. Test edilen bakteri MBL yapmaktadır.

4-Kombine disk testi (KDT): Mueller-Hinton Agar plağına 0.5 Mc Farland bulanıklılığında hazırlanan test bakterisi yayıldı. Daha sonra 10µg' lık 2 imipenem diski birbirinden 22 mm uzaklıkta olacak şekilde yerleştirildi. Bu disklerden birine 10µl 0.5 M (pH 8) EDTA damlatıldı. Bir gecelik 35 derecedeki inkübasyondan sonra değerlendirme yapıldı. EDTA'lı diskin çevresindeki inhibisyon zon çapı, EDTA'sız disk zon çapından en az 7 mm daha büyükse so-

nuç pozitif olarak kabul edildi(7). (Şekil 3)



Resim 3: MKombine Disk Testi ile incelenen iki suşta da EDTA+İMP diski çevresindeki zon çapı İMP disk zon çapından 7 mm'den daha geniştir. İki bakteride MBL yapmaktadır.

Sonuç

Çalışma için seçilen 54 asinetobakter suşunun izole edildikleri klinik örnekler tablo 1' de gösterilmiştir.

Tablo 1: Asinetobakter suşlarının izole edildiği klinik örnekler (n:54)

Klinik Örnek	İzolat sayısı	Oranı (%)
Endotrakeal aspirat	21	39
Yara	10	19
İdrar	8	15
Balgam	8	15
BOS	4	7
Kan	3	5
Toplam	54	100

Araştırma döneminde asinetobakter suşları en fazla kardiyovasküler cerrahi, göğüs yoğun bakım, onkoloji kliniği olmak üzere 17 farklı klinikten izole edilmişlerdir.

Çalışma için seçilen 78 psödomonas suşunun izole edildikleri klinik örnekler Tablo 2'de gösterilmiştir. Psödomonas suşları da en sık çocuk hastalıkları, nöroloji ve üroloji klinikleri olmak üzere toplam 18 ayrı klinikten izole edilmişlerdir.Çalışmaya dahil edilen 78 psödomonas suşunun 37'sinde (% 47) imipenem direnci belirlenmiş ve bu suşlarda metallo beta-laktamaz varlığı 4 farklı yöntemle incelenmiştir. Yine 54 asinetobakter suşunun 33'ü (% 61) imipenem dirençli bulunmuş ve metallo beta laktamaz yapımları incelenmiştir. Bu dönemde hastanemiz Enfeksiyon Kontrol Komitesi Hastane Enfeksiyonları Sürveyansı

Tablo 2: Psödomonas suşlarının izole edildiği klinik örnekler (n:78)

Klinik Örnek	İzolat sayısı	Oranı (%)
İdrar	25	32
Yara	25	32
Kan	10	13
Endotrakeal aspirat	13	17
Balgam	5	6
Toplam	78	100

sonuçlarına göre psödomonas suşları imipeneme % 43.9, asinetobakter suşları ise 84.9 oranında dirençli bulunmuşlardır.

İncelenen 37 *P.aeruginosa* suşunun MHT ile 19'u (% 51), ÇDST ile 17'si (% 46), KDT ile 23'ü (% 62) ve MT ile şelatör varlığında MİK değerinin 8 kat azalması esas alındığında 20'si (% 54), 16 kat azalma esas alındığında ise 15'i (46) metallo beta-laktamaz yapımı bakımından pozitif bulunmuştur. Yine bu çalışmaya alınan 33 asinetobakter su-

şunun MHT ile 22'si (%67), ÇDST ile 15'i (%45), KDT ile 25'i (% 76), MT ile şelatör varlığında MİK değerinin 8 kat düşmesi esas alındığında 21'i (%64) ve 16 kat düşmesi esas alındığında 18'i (% 56) metallo beta laktamaz yapımı bakımından pozitif bulunmuşlardır.

Psödomonas ve asinetobakter birlikte düşünüldüğünde incelenen toplam 70 bakteriden 41'i (%56) MHT ile 32'si (%46) ÇDST ile, 48'i (%69) KDT ile, 41'i (%54) MT(8) ile ve 33'ü (%47) MT(16) ile karbapenemaz yapımı bakımından pozitif bulunmuşlardır.

CLSI'nin Ocak 2009 M100-S19 dökümanında karbapenemlere direnç bulunması durumunda MHT'nin karbapenemaz varlığını teyit etmek için kullanılması önerildiğinden bu test altın standart kabul edilerek diğer testlerin güvenilirliği test edilmiştir(10).

MHT sonuçlarıyla karşılaştırılan diğer üç yöntemin pozitif prediktif değeri (PPD), negatif prediktif değeri (NPD), özgüllük ve duyarlılıkları hesaplanmıştır. *P.aeruginosa* için hesaplanan sonuçlar Tablo 3, asinetobakterler ait değerler ise Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 3: *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının metallo beta-laktamaz yapımının değerlendirilmesinde değişik fenotipik yöntemlerin değeri

Testin Adı	PPD*	NPD**	Özgüllük	Duyarlılık
Çift Disk Sinerji	88.2	80.0	88.8	78.9
Kombine Disk	78.2	100	73.6	100
Mikrotitrasyon(8)	90.0	94.1	88.8	94.7
Mikrotitrasyon(16)	100	81.8	100	78.9
* Pozitif prediktif değer, **Negatif prediktif değer				

Tablo 4: Asinetobakter suşlarında metallo beta laktamaz yapımının değerlendirilmesinde değişik fenotipik yöntemlerin değeri

Testin Adı	PPD	NPD	Özgüllük	Duyarlılık
Çift Disk Sinerji	93.3	55.5	90.9	63.6
Kombine Disk	80.0	75.0	54.5	90.9
Mikrotitrasyon(8)	91.3	90.0	81.8	95.4
Mikrotitrasyon(16)	94.5	66.7	90.1	77.3

Tartışma

Başta asinetobakter ve psödomonas türleri olmak üzere nonfermentatif gram negatif basiller (NFGNB) hastane enfeksiyonlarından her geçen gün artan bir sıklıkta izole edilmektedirler. Bu bakterilerin antibiyotiklere farklı mekanizmalarla direnç geliştirme yetenekleri ve bazı direnç mekanizmalarının bakteriden bakteriye yayılabilme özelliği göstermesi bu bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde önemli sorunlara neden olmaktadır. Son yıllara kadar bu enfeksiyonların tedavisinde önemli bir yer tutan karbapenemlerinde bu bakterilerin ürettiği karbapenemazlar nedeniyle bu sorun daha da ileri bir boyuta taşınmıştır. Karbapenemaz üreten bakteriler sadece karbapenemlere değil aztreonam dışında kalan bütün beta laktam antibiyotiklere de dirençli olmaktadır. Bu nedenle in vitro karbapenemlere dirençli bulunan NFGNB'lerin karbapenemaz yapımını yapmadıklarının MHT ile teyit edilmesi CLSI tarafından önerilmektedir(10). Bu enzimlerin varlığının araştırılmasında farklı fenotipik yöntemler kullanılabilirler. Karbapenemazların metallo beta laktamaz tiplerinde enzimin aktif bölgesinde bir yada iki çinko iyonu bulunmaktadır. Bu nedenle EDTA gibi metal iyonunu gideren şelatörler kullanılarak enzimin inaktivasyonuna dayanan enzim belirleme yöntemleri tanımlanmıştır. Bu yöntemlerin duyarlılığı ve özgüllüğü değişiklik göstermektedir. Yine şelatör varlığında enzimin inaktivasyonuna bağlı olarak karbapenem MİK değerinin düşmesine dayanan bir mikrotitrasyon yöntemi de tarif edilmiştir(11).

Bu çalışmada MHT, KDT, ÇDST ve MT testleri kullanılarak karbapenemlere dirençli bulunan 37 *P.aeruginosa* ve 33 asinetobakter türünde karbapenemaz yapımı incelenmiştir.

İncelenen 37 *P.aeruginosa* suşunun MHT ile 19'u (% 51), ÇDST ile 17'si (% 46), KDT ile 23'ü (% 62) ve MT ile şelatör varlığında MİK değerinin 8 kat azalması esas alındığında 20'si (% 54), 16 kat azalma esas alındığında ise 15'i (% 46) metallo beta laktamaz yapımı bakımından pozitif bulunmuştur. Yine bu çalışmaya alınan 33 asinetobakter suşunun MHT ile 22'si (67), ÇDST ile 15'i (%45), KDT ile 25'i (% 76), MT ile şelatör varlığında MİK değerinin 8 kat düşmesi esas alındığında 23'ü (%69) ve 16 kat düşmesi esas alındığında 18'i (% 56) metallo beta-laktamaz yapımı bakımından pozitif bulunmuşlardır.

Psödomonas ve asinetobakter birlikte düşünüldüğünde incelenen toplam 70 bakteriden 41'i (%56) MHT ile, 32'si (%46) ÇDST ile, 48'i (%69) KDT ile, 43'ü (%61) MT(8) ile ve 33'ü (%47) MT(16) karbapenemaz yapımı bakımından pozitif bulunmuşlardır.

Alınan sonuçlar ülkemiz ve diğer ülke sonuçlarında alınan sonuçlarla uyumludur (8,12,13,14). Ancak her yeni çalışmada saptanan karbapenemaz sayısında bir artma eğilimi

mi olduğu görülmektedir. Ülkemizde yapılan farklı çalışmalarda farklı yöntemlerle karbapenemlere dirençli bulunan psödomonas kökenlerinde %0 ile % 73 arasında değişen, asinetobakter türlerinde ise yine % 0 ile % 84 arasında değişen metallo beta-laktamaz sıklığı belirlenmiştir(15,16,17,18). Farklı değerlerin alınması test edilen bakterinin alındığı kaynak ve yapılan testlere bağlıdır. Bu çalışmada da KDT ile test edilen bakterilerde MHT testine göre daha yüksek, ÇDST ile daha düşük pozitif sonuçlar alınmıştır. Sesli ve ark. da çalışmalarında, KDT ile MHT testine göre daha yüksek pozitif değerler almışlardır(18). Behera ve ark. da KDT'ini ÇDST'ine göre daha duyarlı bulmuşlardır(19). Moleküler yöntemlerle enzim gen varlığının kanıtlanması en güvenilir yöntemdir(9,20,21). Ancak bu yöntemde bir çok laboratuarda kullanılabilme koşulları bulunmamaktadır.

Test edilen fenotipik yöntemlerden psödomonas suşları için en duyarlısı KDT bulunmuştur. Bütün pozitif sonuçları saptamıştır. Ancak bu yöntemle % 22 oranında yanlış pozitif sonuç alınmıştır. ÇDST'inde bazı pozitif sonuçlar yakalanamamakta, yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlar alınabilmektedir. Bogiel ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada benzer olarak ÇDST'nin duyarlılığını yüksek ancak özgüllüğünü düşük bulmuşlardır(22). Test edilen 4 istatistiksel değer açısından genel olarak en güvenilir test olarak MİK değerinin 8 kat azalmasının esas alındığı mikrotitrasyon yöntemi bulunmuştur. Bu yöntemle 16 katlık MİK azalması esas alındığında % 100 oranında bir özgüllük sağlanmakta ve hiç yanlış pozitif sonuç alınmamaktadır. Ancak yanlış negatif sonuçlar alınabilmesi açısından sorun yaratmaktadır.

Asinetobakter türleri için ÇDST özgüllüğü en yüksek test (% 90.9), MT(8) ise duyarlılığı en yüksek test (%95.4) olarak bulunmuştur. Ancak incelenen 4 değer açısından en güvenilir test olarak yine 8 kat MİK azalmasının esas alındığı MT(8) bulunmuştur. Bu testin PPD'i % 91.3, NPD'i % 90, özgüllüğü % 81.8 ve duyarlılığı % 95.4 olarak bulunmuştur.

CLSI tarafından bu enzimlerin gösterilmesi için önerilmiş bir standart test olmamakla birlikte, MHT, karbapenem direnci saptandığında karbapenemaz yapımının doğrulanması için önerilmiş bir testtir(1,10). Ancak en güvenilir yöntem enzimi kodlayan gen varlığının moleküler genetik yöntemlerle gösterilmesidir. MHT uygulaması standart *E.coli* suşu gerektirmektedir. Değerlendirmede bazen hatalı yorumlara neden olabilmektedir. Her bakteri için karbapenem direnci olduğu anlaşıldıktan sonra yapılması önerilmektedir. Bu çalışma sonuçlarına göre hem psödomonas hem de asinetobakter suşları için MHT testi ile MT testlerinde hemen hemen benzer sonuçlar alındığı görülmüştür. Şelatör varlığında ölçülen karbapenem MİK değerinin en az 8 kat azalması esasına dayanan karbapenemaz

yapımının gösterilmesi kolay ve pratik bir yöntem olarak görülmektedir.

Özellikle otomasyona dayalı MİK değerlendiren panellere bir karbapenem sırası ve birde karbapenem ve şelatör sırasının eklenmesi ile eş zamanlı hem MİK değeri ölçen karbapenem duyarlılık testi hem de karbapenemaz yapımını araştırılan test bir arada gerçekleştirilebilir.

Kaynaklar

- 1-Gupta V: Metallo beta lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species Expert Opin. Investig. Drugs (2008) 17(2):131-143
- 2-Kore Lee K, Park AJ, Kim MY, Lee HJ, Cho JH, Kang JO, Yong D, Chong Y, KONSAR group: Metallo-β-Lactamase-Producing *Pseudomonas* spp. in Korea: High Prevalence of Isolates with VIM-2 Type and Emergence of Isolates with IMP-1 Type. *Yonsei Med J* 50(3): 335-339, 2009
- 3-Wang Z, Fast W, Valentine AM, Benkovic J. Metallo-beta-lactamase: structure and mechanism *Chemical Biology* 1999, 3:614-622
- 4-Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, Mitsuhashi S. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 147- 51
- 5-Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 306-25.
- 6-Qu TT, Zhang J, Wang J, Tao J, Yu YS, Chen YG, Zhou JY, Li LJ: Evaluation of Phenotypic Tests for Detection of Metallo-β-Lactamase-Producing *Pseudomonas aeruginosa* Strains in China, *J Clin Microbiol* 2009, 47(4):1136-1142
- 7-Pica RC, Andrade SS, Nicoletti AG, Campana EH, Moraes GC, Mendes RE, Gales AC: Metallo-β-Lactamase Detection: Comparative Evaluation of Double-Disk Synergy versus Combined Disk Tests for IMP-, GIM-, SIM-, SPM-, or VIM-Producing Isolates *J Clin Microbiol*, 2008, 46(6): 2028-2037
- 8-Gupta V, Data P, Chander J: Prevalence of metallo-β lactamase (MBL) producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. in a tertiary care hospital in India *Journal of Infection* (2006) 52, 311-314
- 9-Manoharan A, Chatterjee S, Mathai D; SARI Study Group: Detection and characterization of metallo beta lactamases producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Indian J Med Microbiol*. 2010, 28(3):241-4.
- 10-Antimikrobik Duyarlılık Testleri İçin Uygulama Standartları; Ondo-kuzuncu Bilgi Eki, CLSI, M100-S19 Dökümanı, Ocak 2009,29,3, Ek:G
- 11-Migliavacca R, Docquier JD, Mugnaioli C, Amicosante G, Daturi R, Lee K, Rossolini GM, Pagani L: Simple Microdilution Test for Detection of Metallo-β-Lactamase Production in *Pseudomonas aeruginosa* *J Clin Microbiol* 2002, 40(11): 4388-4390
- 12-Saderi H, Karimi Z, Owlia P, Bahar MA, Akhavi Rad SMB: Phenotypic Detection of Metallo-beta-lactamase Producing *Pseudomonas aeruginosa* Strains Isolated from Burned Patients, *Iranian Journal of Pathology*, 2008, 3(1),20-24,

13-Hemalatha V, Sekar U, Kamat V: Detection of metallo beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in hospitalized patients *Indian J Med Res* 2005, 122: 148-152

14-Irfan S, Zafar A, Guhar D, Ahsan T, Hasan R. Metallo-β-lactamase-producing clinical isolates of *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa* from intensive care unit patients of a tertiary care hospital. *Indian J Med Microbiol* 2008;26:243-5

15-Aktaş EA, Yiğit N, Kayserili F, Ayyıldız A. *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ve metallo-beta laktamaz üretiminin araştırılması *İnfeksiyon Dergisi* 2009; 23 (2): 57-62

16-Fidan I, Çetin Gürel F, Yüksel Sultan N: *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnç ve metallo-beta-laktamaz sıklığı ANKEM Derg 2005;19(2):68-70.

17-Asci Toraman Z, Yakupogullari Y, Kizirgil A: Detection of metallo-β-lactamase production and antibiotic resistance with E-test method in *Pseudomonas*, *Acinetobacter* and *Klebsiella* strains, in Turkey *J Infect Chemother* (2004) 10:257-261

18-Sesli Çetin E, Tetik T, Kaya S, Cicioğlu Arıdoğan B: *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında metallo-beta-laktamaz üretiminin dört farklı fenotipik yöntemle araştırılması *İnfeksiyon Dergisi* 2009; 23 (2): 51-55

19-Behera B, Mathur P, Das A, Kapil A, Sharma V. An evaluation of four different phenotypic techniques for detection of metallo-β-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Indian J Med Microbiol* 2008 26:233-7

20-Wirth FW, Picoli SU, Cantarelli VV, Gonçalves AL, Brust FR, Santos LM, Barreto MF: Metallo-β-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in two hospitals from southern Brazil, *Braz J Infect Dis* 2009, 13 (3) :170-2

21-Franklin C, Liolios L, Peleg AY: Phenotypic Detection of Carbapenem-Susceptible Metallo-β-Lactamase-Producing Gram-Negative Bacilli in the Clinical Laboratory. *J Clin Microbiol* 2006, 44(9): 3139-3144

22-Bogiel T, Deptula A, Gospodarek E: Evaluation of different methods for detections of metallo beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Polish Journal of Microbiology*, 2010, 59(1). 45-48

Sorumlu Yazar: Prof. Dr. Nedim SULTAN
Gazi Ün. Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji AD,
ANKARA -TÜRKİYE
Tel: 0 (312) 202 46 33
E-mail: mnedim@gazi.edu.tr

2006 Yılı Türkiye Ulusal Zehir Danışma Merkezine Yapılan Antidepresan İlaç Zehirlenmelerine Bağlı Başvuruların Değerlendirilmesi

Evaluation of Applications Regarding Antidepressant Drug Toxicity to Poison Information Center in 2006

Selçuk YAKIŞTIRAN, Didem İKİNCİOĞULLARI, A. Arzu SAYIN, Cansın ARDA, Ebru TEMEL GÜRSEL, Emel TÜRKBEY, Günseli Tuba KABAKÇI, Naci ÖZER, Nilgün OTO GEÇİM, Nuşin HARMANCI, Nüvit GÖNÜL, Nurhan ÖZCAN, Elvan KARAOĞLU, Güler KARAHAN, Gülsen TOPAKTAŞ, Nihal EMİROĞLU, Sibel YAMALI

T.C. Sağlık Bakanlığı, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Ulusal Zehir Danışma Merkezi, Ankara-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 03.11.2010

Kabul Tarihi: 22.11.2010

Özet

Amaç: 2006 yılında T.C. Sağlık Bakanlığı, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Ulusal Zehir Danışma Merkezi'ne (UZEM) başvuran antidepresan ilaçlara bağlı zehirlenme vakalarının değerlendirilmesi.

Gereç ve Yöntem: Araştırmamızda, incelenen başvurularda antidepresan ilaçlara bağlı zehirlenme vakaları toplam sayı, yaş ve cinsiyet dağılımları, maruz kalınan antidepresan ilaç tipi, maruz kalma nedenleri, başvuru yapan birim açısından geriye dönük olarak değerlendirildi.

Bulgular: Bu çalışmada, Ulusal Zehir Danışma Merkezi'ne antidepresan ilaçlar ile ilişkili olarak bildirilen zehirlenme vakaları geriye dönük olarak 2006 yılı vaka kayıtları incelenerek değerlendirilmiştir. 2006 yılında 6925 vaka başvurusu yapılmıştır. İncelenen başvurular toplam sayı, yaş ve cinsiyet dağılımları, maruz kalınan antidepresan ilaç tipi, maruz kalma nedenleri ve başvuru yapan birim açısından değerlendirilmiştir.

2006 yılında UZEM'e toplam 47.452 (Türkiye nüfusuna oranı % 0,063) zehirlenme vakası danışılmıştır. Toplam zehirlenme vakalarının 32.916'sı farmasötik ilaçlara bağlı (toplam zehirlenme içindeki oranı % 69) zehirlenme vakalarıdır. Antidepresan ilaçlara bağlı vakaların sayısı 6.925 kişidir (toplam zehirlenme vakalarına göre oranı % 14,5, farmasötik ilaçlara bağlı zehirlenme vakalarına göre oranı % 21). Büyük çoğunluğu (%77,32) devlet hastaneleri tarafından yapılan başvuruları ikinci sırada fakülte hastaneleri takip etmiştir. Maruz kalma nedenleri kaza (%17), intihardır (%57).

Maruz kalınan antidepresan ilaç tiplerine göre; amitriptilin %36,7; sertralin %11,42; citalopram %9,31; opipramol %7,26; mirtazapin %6,37 zehirlenmeye neden olan ilk beş ilaç grubunu oluşturmaktadır. İlk sırada yer alan amitriptilin (%36,7) tek başına özel önlem alınmasını gerektirmektedir. Yaş dağılımları sırası ile 20-29 yaş grubunda; %32,2, 15-19 yaş grubunda; %19,30, 30-39 yaş grubunda; %14,05, 1-4 yaş grubunda; %13,90, 40-49 yaş grubunda ise %5,66 olarak tespit edilmiştir.

Sonuç: Antidepresan ilaçlara bağlı zehirlenmeler her zaman Merkezimize yapılan başvurular arasında çok yüksek oranlara sahip olmuştur. Ayrıca tüm terapötik ilaçlara bağlı zehirlenmeler içinde antidepresan ilaçlara bağlı zehirlenmelerde intihar girişimlerinin oranının belirgin olarak yüksek olduğu dikkati çekmiştir. Bu oran toksikovijilans açısından önemli ve antidepresanların intihar eğilimini artırıp artırmadıkları konusunun araştırılmaya değer olduğunu düşündürmüştür. Bu nedenle bu başvuruların incelenmesi ve değerlendirilmesinin toplum sağlığı açısından önemli olduğuna karar verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antidepresan ilaç zehirlenmeleri; amitriptilin; Ulusal Zehir Danışma Merkezi (UZEM).

Abstract

Aim: The aim of this study is to evaluate the antidepressant poisoning cases which were consulted to National Poison Information Center (PIC) during 2006.

Material And Methods: In our study we evaluated the antidepressant drug poisoning cases according to the total case number, age, gender, the type of the drug, the cause of the exposure and application center retrospectively.

Findings: In this study the antidepressant drug poisoning cases at 2006 were evaluated retrospectively. In 2006, 6925 antidepressant cases were consulted to Poison Information Center. The antidepressant drug poisoning cases were evaluated according to the total case number, age, gender, the type of the drug, the cause of the exposure and application center.

In 2006 total 47,452 cases (0.063% of total population of Turkey) were consulted to PIC. 32,916 cases were caused by pharmaceuticals (% of total calls). The number of calls of antidepressant drug poisoning cases were 6,925(21% of total calls). State hospitals were in the first order (%77,34) of calling centers which the university hospitals were in the second. The (17%) of the calls were accidental and the 57% were suicidal attempts.

The distribution of antidepressant drugs according to the type is; amitryptiline (36.7%), sertralin (11.42%), citalopram (9.31%), opipramol (7.26%), mirtazapin (6.37%) were evaluated. The distribution of the cases according to the age is; 20-29 age group (%32.2); 15-19 age group (%19.30); 30-39 age group (%14,05); 1-4 age group (%13,90); 40-49 age group (%5,66).

Result: The number of calls of antidepressant drug poisoning cases are always high among the inquiries of PIC. The ratio of the suicidal attempts by antidepressant drugs are significantly high among the therapeutic drugs. This high ratio is important for the toxicovigilance and we think it is meaningful to evaluate the relation between the antidepressant drugs and suicidal attempts.

Key Words: Antidepressan poisoning; amitriptilin; National Poison Information Center (PIC).

Giriş

Firmaların prospektüslerinde yer alan kullanım endikasyon bilgilerine göre antidepresanlar; (agorafobi ile birlikte veya agorafobi olmaksızın panik bozukluğu semptomlarının tedavisi ve relapsın önlenmesi; panik ataklar; anksiyete ile birlikte olan veya olmayan muhtelif tipte depresyonlar (endojen, endojen ve geç yaşta başlayan (involyüsyonel) envolyüsyonel, organik, nörotik, psikoreaktif, atipik sekonder vs.); yorgunluğa bağlı depresyon, somatojen depresyon, majör depresyon tedavisi ve relaps / reküransların önlenmesi ile depresif belirtilerin tedavisinde; kronik alkolizme eşlik eden depresyonlarda dahil; anksiyete; genel anksiyete bozukluğu; yaygın anksiyete bozukluğu tedavisinde; huzursuzluk; diyabetik periferik nöropatik ağrı; emosyonel affektif bozuklukları; organik beyin sendromları; enurezis nokturna; fobiler; sosyal fobinin (sosyal anksiyete bozukluğu); gece korkusu; gerilim; kardiyovasküler, mide-bağırsak, solunum sistemi, ürogenital sistem, deri hastalıkları ve menopoz ve beyin ile ilgili kronik hastalıklarda sekonder olarak meydana gelen ruhsal rahatsızlıklar; kişilik bozuklukları; konsantrasyon yayılgılığı; kronik ağrılı durumlar; narkolepsiye eşlik eden katapleksi; obsesif kompulsif bozukluk semptomlarının tedavisi ve relapsın önlenmesi; premenstrüel disforik bozukluk tedavisinde; sosyal anksiyete bozukluğu / sosyal fobi tedavisinde;

psikosomatik hastalıklar; travma sonrası stres bozukluğu tedavisinde yaygın olarak kullanılırlar (1). Aslında kanunen reçetesiz satılması yasak olmasına rağmen, vatandaşlar, reçete olmadan eczaneye gidip bu tip ilaçları satın almaktadırlar (2).

Trisiklik antidepresan ilaçlarla oluşan zehirlenmeler hem morbidite hem de mortalite açısından büyük risk taşımaktadır (3). Bu ciddi zehirlenme etkenleri ile oluşan maruziyetlere bağlı başvurular Zehir Danışma Merkezi'ne yapılan başvurular arasında önemli bir orana sahiptir.

Amerika Zehir Danışma Merkezleri Birliği (American Association of Poison Control Centers; AAPCC) 2005 yılı raporuna göre; Amerika Birleşik Devletleri toplam nüfusu 296.400.000 kişidir 2005 yılında toplam zehirlenme oranı 2,424,180 kişi (% 8,2), ölüm ile sonuçlanma oranı 1,261 kişi (% 0,052), antidepresan ilaçlarla zehirlenme oranı 98,193 kişi (% 4,1), ölüm oranı ise 340 kişi (% 0.34)'tür, 2005 yılında 6 yaş altı toplam zehirlenme oranı 1.233,695 kişi (% 50,9), 6 yaş altı antidepresan ilaçlarla zehirlenme oranı ise sadece 13.804 kişidir (% 1,1) (3).

Ülkemizde'de Ulusal Zehir Danışma Merkezi (UZEM) 2008 çalışma raporuna göre 77.788 vaka, tespit edilebilen 109.715 değişik ajanla zehirlenmişlerdir (5). 2008 yılı UZEM vaka başvurularının ajanlara göre dağılımında ilk sırayı insan sağlığı için kullanılan ürünler almaktadır.

(% 69,74). Kayıtlar hedef organ sistemine göre incelendiğinde, zehirlenmeye neden olan ilaçlar arasında ilk sırada sinir sistemi ilaçları ile zehirlenme oranı 33.842 kişi (% 39,54), ikinci sırada ise kas iskelet sistemi ilaçları 11.601 kişi (%13,56) diğerleri sırasıyla sindirim sistemi ve metabolizma ilaçları 10.550 kişi (%12,33) solunum sistemi ilaçları 8.390 kişi (%9,81) Sistemik kullanılan anti-infektifler 6.282 kişi (%7,34) olarak tespit edilmiştir. Etkin madde bazında incelendiğinde en çok zehirlenme etkeni olan ilaçlar arasında ilk sırada parasetamol (asetaminofen) etkin maddesini içeren ilaçların olduğu anlaşılmıştır (%6,78), kombine üst solunum yolu ilaçları ve amitriptilin ise parasetamolü takiben en sık karşılaştığımız etkin maddelerdir (5).

Ülkemizde Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İlaç ve Zehir Danışma Merkezi (DEÜTF ZDM)'ne 1993-1995 yılları arasında bildirilen antidepresan ilaçlar ile zehirlenmelerin oranı (%11,2)'dir (6).

Türkiye'de antidepresan ilaçlarla zehirlenmelerin demografik özellikleri ile ilgili kısıtlı sayıda bilgi bulunmaktadır. Genelde antidepresan ilaç zehirlenmelerinin demografik özelliklerinin araştırıldığı çalışmalar acil servis başvurularının geriye dönük değerlendirilmesi şeklindedir.

Çalışmamızın amacı, Ulusal Zehir Danışma Merkezi (UZEM) 2006 yılına ait verilerine göre antidepresan ilaçlarla zehirlenmelerin demografik özellikleri, toplam sayı, yaş ve cinsiyet dağılımları, maruz kalınan antidepre-

san ilaç tipi, maruz kalma nedenleri ve başvuru yapan birim açısından değerlendirilmesidir.

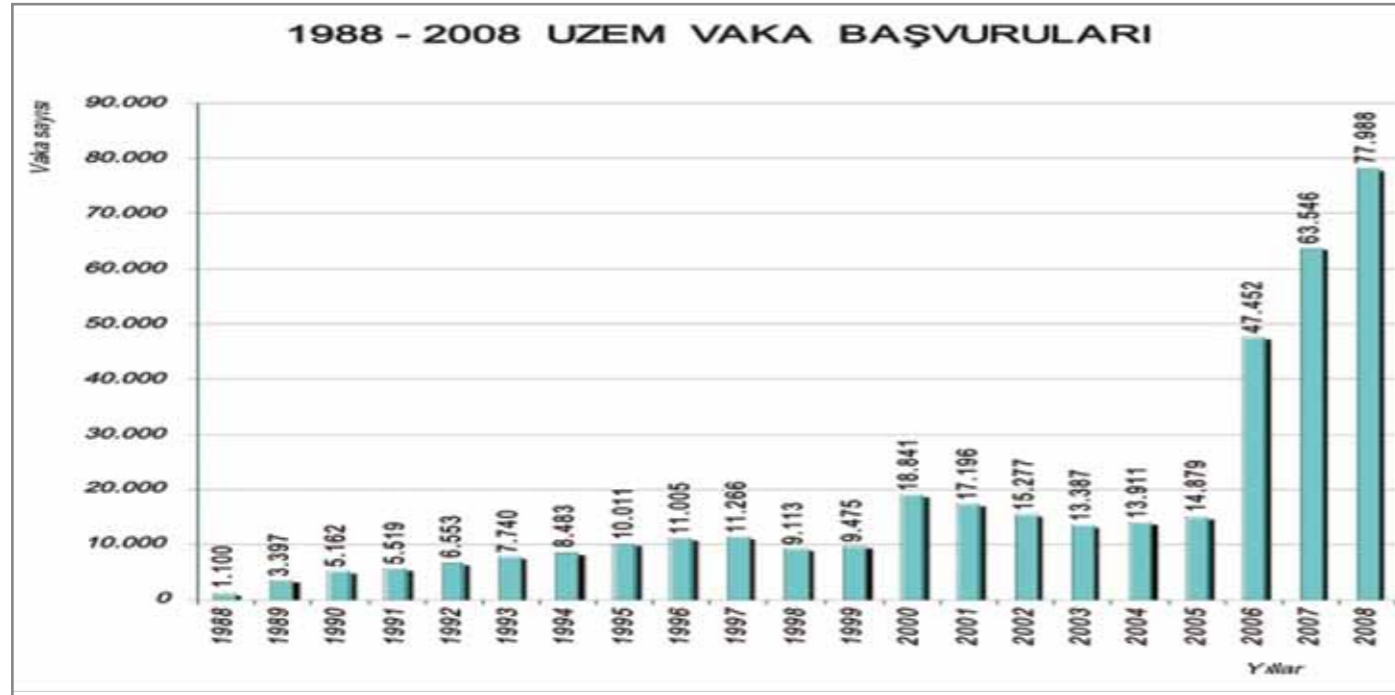
Gereç ve Yöntem

Ulusal Zehir Danışma Merkezi'nin (UZEM) 2006 yılına ait telefonla yapılan başvuru kayıtları geriye dönüşlü olarak incelenmiş ve değerlendirilmiştir.

2006 yılında Ulusal Zehir Danışma Merkezi'ne toplam 6925 vaka başvurusu yapılmıştır. Bu başvurular arasında terapotik ilaçlara maruz kalma durumu ilk sıradadır. İncelenen başvurularda antidepresanlara bağlı zehirlenme vakaları toplam sayı, yaş ve cinsiyet dağılımları, maruz kalınan antidepresan ilaç tipi, maruz kalma nedenleri, başvuru yapan birim açısından değerlendirilmiştir.

Bulgular

1988-2008 yıllarına ait Ulusal Zehir Danışma Merkezi (UZEM) başvuru sayıları şekil 1'de yer almaktadır (5). 1988 yılında 1.100 vaka kaydı ile başlayan çalışma 1989-1992 yılları arasında ortalama 3.397-6.553 kişi 1993-1999 yıllarında 7.740-11.266 kişi 2000-2004 yılları arasında ise 13.387-18.841 kişi arasında seyretmiştir. UZEM sisteminde yapılan çalışmalar sonucu 2006 yılından itibaren vaka sayılarında önemli artışlar gerçekleştirilmiştir. Yıllık başvuru sayısı 2006 yılında 47.452 kişi 2007 yılında 63.546 2008 yılında toplam zehirlenme oranı 77.988 kişi olarak gerçekleşmiştir.



Şekil 1: Ulusal Zehir Danışma Merkezi'ne vaka başvuru sayıları, 1988- 2008

1988-2008 yıllarına ait aynı dönemdeki Amerika Zehir Danışma Merkezleri Birliği (American Association of Poison Control Centers; AAPCC) başvuru sayıları Amerika Birle-

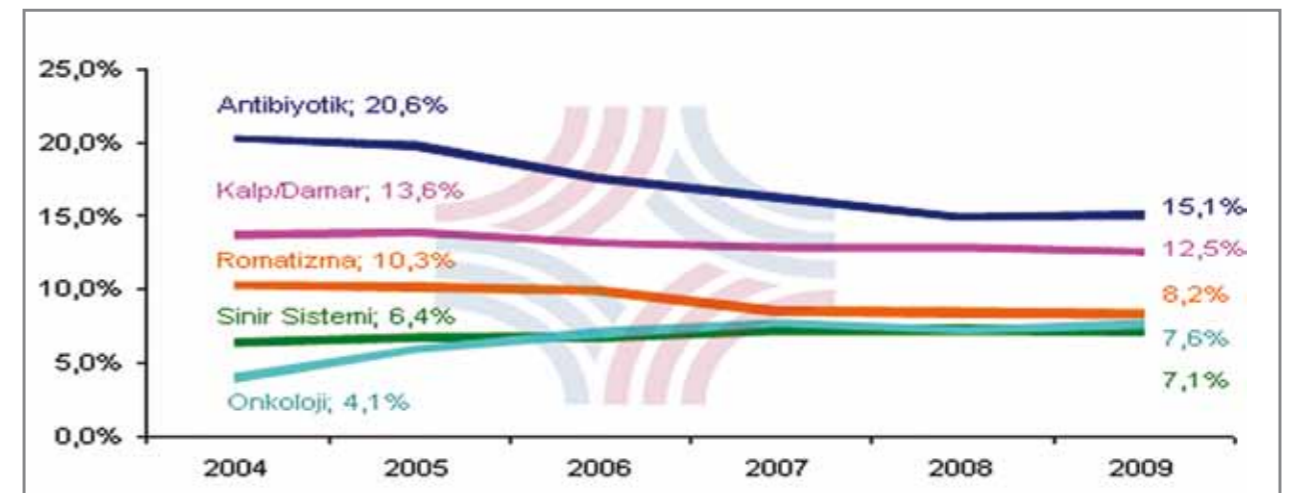
şik Devletleri nüfusa göre zehirlenme oranları (% 8,7-9,7) arasında hemen hemen sabit olarak seyretmiştir (tablo 1).

Tablo 1: Amerika Zehir Danışma Merkezleri Birliği (AAPCC) 2005 yılı raporu; yıllara göre vaka başvuru sayıları (tablo 1-A)

Yıl	Katılımcı Zehir Danışma Sayısı	Nüfus sayısı	Zehirlenme sayısı	Yüzde
1988	64	155,7	1,368,748	8,8
1989	70	182,4	1,581,540	8,7
1990	72	191,7	1,713,462	8,9
1991	73	200,7	1,837,939	9,2
1992	68	196,7	1,864,188	9,5
1993	64	181,3	1,751,476	9,7
1994	65	215,9	1,926,438	8,9
1995	67	218,5	2,023,089	9,3
1996	67	232,3	2,155,952	9,3
1997	66	250,1	2,192,088	8,8
1998	65	257,5	2,241,082	8,7
1999	64	260,9	2,201,156	8,4
2000	63	270,6	2,168,248	8
2001	64	281,3	2,267,979	8,1
2002	64	291,6	2,380,028	8,2
2003	64	294,7	2,395,582	8,1
2004	62	293,7	2,438,643	8,3
2005	61	296,4	2,424,180	8,2

2009 yılında, Türkiye reçeteli ilaç pazarı tutar olarak (%16,8) oranındaki büyümeyle 14 milyar TL'ye (9,1 milyar Dolar), kutu olarak %3,9 oranında büyümeyle 1,42 milyar kutuya ulaşmıştır. Tedavi Gruplarına Göre İlaç Tüketimi incelendiğinde pazarda, tutar ölçeğinde, ilk 5 tedavi grubu sıralamasında yıllara göre önemli bir değişiklik

olmamıştır. 2005 yılı verilerine göre antibiyotiklerin pazar payı (%20,6), kalp damar ilaçlarının payı (%13,6) romatizma ilaçlarının payı (%10,3) sinir sistemi ilaçlarının (%6,4) onkoloji ilaçlarının payı (%4,1) olarak ortaya çıkmıştır (şekil 2) (7).



Şekil 2: Tedavi gruplarına göre ilaç tüketimi kaynağı: İlaç Endüstrisi İşverenler Sendikası, sektörel göstergeler, ilaç pazarı / tüketim;



Ulusal Zehir Danışma Merkezi'nin (UZEM) 2008 yılı çalışma raporuna göre; "Etkin Madde Bazında En Sık Tespit Edilen İlk Beş İlaç" sırası ile Parasetamol 5.801 kişi (%6,78), Kombine ÜSYE ilaçları 3.705 kişi (%4,33), Amitriptilin 3.485 kişi (%4,07), Sertralin 2.113 kişi (%2,47), Flurbiprofen 1.754 kişi (%2,05) olarak gerçekleştirilmiştir (Tablo 2) (5).

Tablo 2: Etkin madde bazında en sık tespit edilen ilk beş ilaç

Sıra	Grup	Kod Açıklaması	Sayı	%
1	N02BE01	Parasetamol	5.801	6,78
2	R05X	Kombine ÜSYE ilaçları	3.705	4,33
3	N06AA09	Amitriptilin	3.485	4,07
4	N06AB06	Sertralin	2.113	2,47
5	M01AE09	Flurbiprofen	1.754	2,05

Ulusal Zehir Danışma Merkezi'nin (UZEM) 2008 yılı çalışma raporuna göre; "Hedef Organ Sistemine Göre İlk Beş Sırada Yer Alan İlaç Grubu'nda" birinci sırada Sinir sistemi ilaçları 33.842 kişi (%39,57), takiben kas ve iskelet sistemi ilaçları 11.601 kişi (%13,56), sindirim sistemi ve metabolizma ilaçları 10.550 kişi (%12,33), solunum sistemi ilaçları 8.390 kişi (%9,81), sistemik kullanılan antiinfektifler 6.282 kişi (% 7,34) olarak gerçekleştirilmiştir (Tablo 3) (5).

Tablo 3: Hedef Organ Sistemine Göre İlk Beş Sırada Yer Alan İlaç Grubu

Sıra	Grup	Kod Açıklaması	Sayı	%
1	N	Sinir sistemi ilaçları	33.842	39,57
2	M	Kas ve iskelet sistemi ilaçları	11.601	13,56
3	A	Sindirim sistemi ve metabolizma ilaçları	10.550	12,33
4	R	Solunum sistemi ilaçları	8.390	9,81
5	J	Sistemik kullanılan antiinfektifler	6.282	7,34

Ulusal Zehir Danışma Merkezi (UZEM) 2006 yılına ait verilere göre tablo 4'de yer almaktadır; Nüfus ve Vatandaşlık Genel Müdürlüğü'nün 2006 yılı istatistiğine göre Türkiye'nin toplam nüfusu 74.530.959 kişidir. 2006 yılında UZEM'e başvuru sayısı 47.452 kişi (Türkiye nüfusu-na oranı % 0,063), farmasotik ilaçlara bağlı toplam zehirlenme oranı 32.916 kişi (toplam zehirlenme içindeki oranı % 69), antidepresan ilaçlarla zehirlenme oranı 6.925 kişi (toplam zehirlenme içindeki oranı % 14,5), (farmasotik ilaçlara bağlı zehirlenme içindeki oranı % 21) (Tablo 4).

Tablo 4: Etkin madde bazında en sık tespit edilen ilk beş ilaç

	Nüfus sayısı	Zehirlenme sayısı	% oran toplam	İlaç zehirlenme sayısı	%oran toplam	Antidepresan zehirlenme sayısı	%oran toplam zehirlenme sayısı	% oran ilaç
2006	74.530.959	47,452	% 0,063	32,916	%69	6,925	%14,59	21,04

2006 yılında kadınların maruz kalma oranı (%67,5) erkeklerin maruz kalma oranı ise (%27,4)'dir (Tablo 5). Cinsiyet dağılımları incelendiğinde kadınların maruz kalma oranının erkeklere göre daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Tablo 5: Etkin madde bazında en sık tespit edilen ilk beş ilaç.

	Kız	Erkek	Bilinmeyen	Toplam	Kız %	Erkek %	Bilinmeyen %
2006	4675	1891	359	6925	% 67,5	% 27,4	% 5,1

2006 yılında kaza alım oranı %17, intihar amaçlı alım oranı ise %57'dir. Tüm terapotik ilaçlara bağlı zehirlenmelerde intihar girişimlerinin oranının yüksek olduğu dikkati çekmiştir. içinde anlamlı bir orana sahip olan antidepresan ilaçlara

Tablo 6: 2006 yılı antidepresan zehirlenmesi başvurularında toplam kaza-intihar dağılımı.

İntihar	Kaza	Toplam	Bilinmeyen	% İntihar	% Kaza	% Bilinmeyen
3985	1159	5144	1781	%57	%17	%26

2006 yılında gelen başvuruların en büyük kısmı devlet hastanelerinden yapılmıştır (%77,32). Devlet hastaneleri ni sırası ile fakülte hastaneleri (%15,45), özel hastaneler (%6,05) ve diğerleri (%1,16) takip etmiştir (tablo 7).

Tablo 7: 2006 yılı Ulusal Zehir Danışma Merkezini arayan devlet, fakülte ve özel hastanelerin % oranları.

	Devlet	% Oran	Fakülte	% Oran	Özel	% Oran	Diğer	% Oran	Toplam vaka sayısı
2006	5355	%77,32	1070	%15,45	419	%6,05	81	%1,16	6925

Maruz kalınan antidepresan ilaç tipi, yaş dağılımları ile birlikte incelenmiştir (tablo 8). Maruz kalınan antidepresan ilaç tipi, sırası ile amitriptilin %36,7; sertralin %11,42; citalopram %9,31; opipramol %7,26; mirtazapin %6,37 oranları ile zehirlenmeye neden olan ilk beş ilaç grubunu oluşturmaktadır (tablo 8). İlk sırada %36,7 oranı ile amitriptilin tek başına özel önlem alınması gerektirmektedir. Yaş dağılımları sırası ile 20-29 yaş grubu %32,2; 15-19 yaş grubu %19,30; 30-39 yaş grubu %14,05; 1-4 yaş grubu %13,90; 40-49 yaş grubu %5,66 oranları ile zehirlenmeye neden olan ilk beş yaş grubunu oluşturmaktadır.

Tablo 8: 2006 yılı antidepresan ilaçlarla yapılan başvurularda maruz kalınan antidepresan ilaç tipi ve yaş dağılımlarının % oranları. (*Çoklu antidepresan ilaç alan 196 hasta gruba dahil edilmemiştir)

	0-1	1-4	5-9	10-14	15-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70	TOPLAM	%yüzde
AMITRIPTYLINE	32	650	188	133	368	636	256	111	42	37	16	2469	36,7%
CLOMIPRAMINE	4	15	9	6	24	59	26	7	3	4		157	2,33%
IMIPRAMINE		32	40	29	46	27	8	14	5		2	203	3,01%
TIANEPTINE	2	6	2	8	41	50	16	5	3	3	1	137	2,03%
OPIPRAMOL	4	58	15	16	87	173	91	27	10	3	5	489	7,26%
CITALOPRAM	12	31	14	23	140	250	92	37	14	6	8	627	9,31%
FLUOXETINE		7	4	9	70	108	35	17	6		2	258	3,83%
FLUVOXAMINE		3	1	3	18	28	4	3	1	1	2	64	0,95%
SERTRALINE	6	45	19	49	165	295	107	45	15	11	12	769	11,42%
PAROXETINE	3	13	2	18	42	107	27	15	3		2	232	3,44%
MIRTAZAPINE	7	47	9	13	60	129	91	41	18	7	7	429	6,37%
MAPROTILINE	1	3	2	1	3	14	6	4			1	35	0,49%
MIANSERIN		10		6	32	65	39	9	7	1	1	170	2,70%
TRAZODONE		2		2	6	10	3	6	4			33	0,49%
VENLAFAXINE	1	13		2	113	85	60	5	2		1	282	4,19%
MOCLOBEMIDE	3		4	8	75	125	75	31	8	5	6	340	5%
REBOXETINE		1			5	6	5	4			2	23	0,34%
MILNACIPRAM				1	4	2	5					12	0,17%
TOPLAM	75	936	309	327	1299	2169	946	381	141	78	68	6729	
%yüzde	%1,11	%13,90	%4,5	%4,85	%19,30	%32,23	%14,05	%5,66	%2,09	%1,15	%1,01	6925	



Amerika Zehir Danışma Merkezleri Birliği (AAPCC) 2005 yılı çalışma raporuna göre; 2005 yılı 2,424,180 toplam zehirlenme vakası içerisinde “En Sık Maruz Kalınan Maddeler” sırası ile Analjezikler 283,253 kişi %11.7, Kozmetikler/ Koruyucu ürünler 221,935 kişi %9.2, Evde kul-

lanılan temizlik ürünleri 218,316 kişi %9.0, Sedatifler/hipnotikler/antipsikotikler 135,09 kişi %5.6, Tarım ilaçları 101,746 kişi %4.2, Antidepresanlar 98,202 kişi %4.1 olmuştur (tablo 11). Toplam zehirlenmeler içinde antidepresanlar görüldüğü gibi 98,202 kişi %4.1 oranındadır.

Tablo 9: Amerika Zehir Danışma Merkezleri Birliği (AAPCC) 2005 yılı raporu; en sık maruz kalınan maddeler (tablo 17-A)

En sık maruz kalınan maddeler	Sayı	Yüzde
Analjezikler	283,253	%11.7
Kozmetikler/ Koruyucu ürünler	221,935	%9.2
Evde kullanılan temizlik ürünleri	218,316	%9.0
Sedatifler/hipnotikler/antipsikotikler	135,09	%5.6
Yabancı cisimler/oyuncaklar/çeşitli nesnelere	122,443	%5.1
Soğuk algınlığı ve öksürük preparatları	116,084	%4.8
Topikal preparatlar	109,831	%4.5
Tarım ilaçları	101,746	%4.2
Antidepresanlar	98,202	%4.1
2005 yılı toplam zehirlenme vakası: 2,424,180		

Amerika Zehir Danışma Merkezleri Birliği (AAPCC) 2005 yılı çalışma raporuna göre; 2005 yılı 6 yaş altı toplam zehirlenme vakası: 1.233.695’dir. Bunlar içerisinde “En Sık Maruz Kalınan Maddeler” sırası ile Kozmetikler / koruyucu ürünler 165,329 kişi %13,4, Evde kullanılan te-

mizlik ürünleri 121,498 kişi %9.8, Analjezikler 100.595 kişi %8.2, Yabancı cisimler/Oyuncaklar/ Çeşitli nesnelere 91.422 kişi %7.4, Antidepresanlar 13.804 kişi %1.1’dir (tablo 12). Toplam zehirlenmeler içinde antidepresanlar görüldüğü gibi 13.804 kişi %1.1’dir.

Tablo 10: Amerika Zehir Danışma Merkezleri Birliği (AAPCC) 2005 yılı raporu; en sık maruz kalınan maddeler (6 yaş altı) (tablo 17-B)

En sık maruz kalınan maddeler (6 yaş altı)	Sayı	Yüzde
Kozmetikler / koruyucu ürünler	165,329	%13.4
Evde kullanılan temizlik ürünleri	121,498	%9.8
Analjezikler	100,595	%8.2
Yabancı cisimler/Oyuncaklar/ Çeşitli nesnelere	91,422	%7.4
Bitkiler	49,41	%4.0
Tarım ilaçları	49,232	%4.0
Antidepresanlar	13,804	%1.1
2005 yılı 6 yaş altı toplam zehirlenme vakası: 1,233,695		

Amerika Zehir Danışma Merkezleri Birliği (AAPCC) 2005 yılı çalışma raporuna göre; 2005 yılı toplam zehirlenmelere bağlı ölüm sayısı: 1,261 kişidir bunlar ölüm nedenlerine göre sıklık sırası incelendiğinde, sırası ile Analjezikler 696 kişi %0,246, Sedatifler/hipnotikler/antipsikotikler 384 kişi %0,284, Bilinmeyen 50 %0,287, Kardi-

ovasküler ilaçlar 234 kişi %0,3, Kas gevşeticiler 73 kişi %0,31, Antidepresanlar 317 kişi %0,323, Stimulanlar ve uyuşturucular 253 kişi %0,551’dir (tablo 13). Toplam zehirlenmeler içinde antidepresanlar görüldüğü gibi 317 kişi %0,323’lik ölüm oranı ile ikinci sırada yer almıştır.

Tablo 11: Amerika Zehir Danışma Merkezleri Birliği (AAPCC) 2005 yılı raporu; zehirlenmelerde ölüm nedenlerine göre sıklık sırası (tablo 18)

Zehirlenmelerde ölüm nedenlerine göre sıklık sırası	Sayı	Yüzde
Antikoagülanlar	12	0,219
Analjezikler	696	0,246
Sedatifler/hipnotikler/antipsikotikler	384	0,284
Bilinmeyen	50	0,287
Kardiovasküler ilaçlar	234	0,3
Kas gevşeticiler	73	0,31
Antidepresanlar	317	0,323
Stimulanlar ve uyuşturucular	253	0,551
2005 yılı toplam zehirlenmelere bağlı ölüm sayısı: 1,261		

Amerika Zehir Danışma Merkezleri Birliği (APCC) 2005 yılı çalışma raporuna göre; 2005 yılı toplam zehirlenmelere bağlı ölüm sayısı: 1,261 kişidir bunlar içerisinde antidepresanlar 98,193 kişi (% 4,1) 340 ölüm (% 0,34) etken madde bazında ölüm sıklığı incelendiğinde, sırası ile Amitriptyline’den 6,788 kişi 48 ölüm, Nortriptyline 1,096

kişi 20 ölüm, diğer cyclic antidepressant 1,11 kişi 17 ölüm, SSRI 48,279 kişi 118 ölüm, Trazodone 12,133 kişi 22 ölüm, Diğerleri 20,678 kişi 91 ölüm gerçekleşmiştir (tablo 14). Ülkemizde ki ölüm oranının kayıtlarımızca bilinmemektedir.

Tablo 12: Amerika Zehir Danışma Merkezleri Birliği 2005 yılı raporu Antidepresan vaka başvuru sayıları ve ölüm oranları, (tablo 22)

Antidepresanlar	Kişi sayısı	Ölüm sayısı	% oran
Amitriptyline	6,788	48	%0,7
Desipramine	159	4	%2,5
Doxepin	1,173	8	%0,68
Imipramine	662	3	%0,45
Nortriptyline	1,096	20	%1,82
Diğer siklik antidepressanlar	1,110	17	%1,53
MAO inhibitör	275	2	%0,72
SSRI	48,279	118	%0,24
Trazodone	12,133	22	%0,18
Diğer	20,678	91	%0,44
Toplam	98,193 (% 4,1)	340 (% 0,34)	

Tartışma

Ülkemizde antidepressan ilaçlarla zehirlenme (% 14,5), (farmasotik ilaçlara bağlı zehirlenme içindeki oranı % 21) gibi anlamlı bir orana sahiptir. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Servisi’ne başvuran 1098 zehirlenme olgusunun (% 32)’sinin antidepressanlarla zehirlenmeler olduğu bildirilmiştir (8). Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İlaç ve Zehir Danışma Merkezi (DEÜTF ZDM)’ne 1993-1995 yılları arasında bildirilen antidepressan ilaçlar ile zehirlenmelerin oranı (% 11.2)’dir (6). Bu oran Amerika Zehir Danışma Merkezleri Birliği tarafından bildirilen (%4,1)’lik antidepressan ilaç zehirlenmesi oranından ol-

dukça yüksektir. Bu oranın yüksek olması, ülkemizde antidepressan ilaçların eczanelerden reçetesiz olarak kolaylıkla alınabilmesi ile açıklanabilir. Antidepressan ilaçların son yıllarda gittikçe daha fazla reçetelenmesi, ilaçların çoğunun maliyetlerinin çok düşük olması ile erişkin yaş grubunda intihar oranlarını açıklanabilir.

Amerika Zehir Danışma Merkezleri Birliği (AAPCC) 2005 yılı çalışma raporuna göre; 2005 yılında antidepressan antidepressan ilaçlarla oluşan 98.202 kişi zehirlenme vakasının 13.804 kişisi 6 yaş altı vakalardır %14’lik oranı ülkemizde antidepressan zehirlenme vakası 6.925 kişi içinde 6 yaş altı 1011 kişi (%14,5) ile benzer bir orandadır.

Çocukluk çağındaki evde bulunan antidepresan ilaçları kaza ile alımlarında ebeveyn sorumluluğunda ve eğitimdeki ciddi eksikliklerden kaynaklandığı düşünülebilir. Tüm zehirlenme olguları içinde de amitriptilin çocukluk döneminde diğer antidepresan ilaçlara oranla daha yüksektir. Amitriptilin draje şeklinde olup çocuklar tarafından şeker sanılarak yenilmesi, fiyatının ucuz olması nedeniyle kolaylıkla satın alınabilmesi ve çocukların kolayca ulaşabileceği yerlerde bulundurulması, amitriptilin zehirlenmelerinin çocukluk yaş grubunda artmasının nedeni olabilir.

Majör depresyon intihar eğilimini de içinde barındıran bir hastalık olduğu için antidepresanlar ile intihar vakaları arasındaki ilişkinin mutlak araştırılması gereken bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır.

Zehirlenmeler önlenemez ölüm nedenlerinden biri olduğundan, özellikle yüksek dozda alımlarda ölümle sonuçlanabilen ve/veya ciddi zehirlenmelere neden olabilen antidepresan zehirlenmelerinin yönetiminin bilinmesi önemlidir (3). Özellikle Amerika Zehir Danışma Merkezleri Birliği 2005 yılı raporunda yer alan Antidepresan tipine bağlı vaka başvuru sayıları ve ölüm oranları incelendiğinde ortaya çıkan daha riskli antidepresan tiplerinin bilinmesi ve reçetelendirilmede daha az riskli gruplara yönlendirilmesi önleyici tedbir olarak değerlendirilebilir.

Antidepresan ilaçların yüksek dozda alınmalarına bağlı klinik; parametreler özet olarak a) kardiyovasküler etkiler; EKG düzensizlikleri, PR intervalinde uzama, QRS genişlemesi, QT uzaması, EKG'de 40 milli/sn sağa kayması, disritmiler, sinus taşikardisi, AV blok, torsades de pointes, ventriküler taşikardi ve fibrilasyon, hipotansiyon b) nörolojik etkiler; letarji, desoriyantasyon, ataksi, konfüzyon, deliryum, koma konvülzyon c) diğer etkiler; antikolinergik etkiler; midriazis, taşikardi, üriner retansiyon, gastrointestinal motilitede azalma olarak değerlendirilebilir (9).

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2001 yılı raporuna göre intihar ve benzeri durumlara bağlı ölümler (% 1,5)'luk oranı ile en sık 10 neden içerisinde yer almaktadır (9). Türkiye'de Yıllara Göre Ölüm Nedenleri (1999-2003) incelendiğinde intihar ve benzeri durumlara bağlı 2000 yılında 1.574 kişi % 0,9 2003 yılında 1.863 kişi % 1 olarak belirlenmiştir (11).

2006 yılında kadınların maruz kalma oranları (%67,5)'dir. Erkeklerin maruz kalma oranları (%27,4)'dir. Cinsiyet dağılımları incelendiğinde kadınların maruz kalma oranının erkeklere göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Kadınların erkeklere göre yaklaşık 2,5 kat fazla oranda zehirlendiği ve özellikle intihar amaçlı antidepresan alımlarının 19-29 yaş arası grupta anlamlı oranda yüksek olduğu saptandı.

Tedavi gruplarına göre ilaç tüketimi incelendiğinde pazarda, tutar ölçüde, sinir sistemi ilaçları (%6,4) paya sahip

tir. Tüm terapötik ilaçlara bağlı zehirlenmeler içinde anlamlı bir orana sahip olan antidepresan ilaçlara bağlı zehirlenmelerde (%21) intihar girişimlerinin oranının belirgin olarak yüksek olduğu dikkati çekmiştir (% 57). Bu oranların toksikovijilans açısından önemi ve bu vakaların epidemiyolojik değerlendirmesinin konuya katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

Sonuç

2006 yılında Ulusal Zehir Merkezine toplam 6925 zehirlenme vaka başvurusu yapılmıştır. Çeşitli etkenlerle oluşan zehirlenmeler arasında terapötik ilaçlara maruziyet ilk sıradadır. Terapötik ilaçlar arasında antidepresanların önemli yer tuttuğu gözlenmiştir. Antidepresan ilaçlara bağlı zehirlenmeler her zaman Merkezimize yapılan başvurular arasında çok yüksek oranlara sahip olmuştur. Tüm terapötik ilaçlara bağlı zehirlenmeler içinde anlamlı bir orana sahip olan antidepresan ilaçlara bağlı zehirlenmelerde intihar girişimlerinin oranının belirgin olarak yüksek olduğu dikkati çekmiştir. Bu oran toksikovijilans açısından önemlidir ve bu vakaların epidemiyolojik değerlendirmesinin konuya katkı sağlayacağı düşünülmüştür. Trisiklik antidepresanlar arasında en sık amitriptilin zehirlenmeye neden olmaktadır. Bu husus ile amitriptilin ayrıca tek başına özel önlem alınması gerektirmektedir. Özellikle de çok ucuz olan amitriptilin içeren ilaçların eczanelerde reçetesiz olarak satılmasında daha çok özenin gösterilmesi önemli bir engelleyici faktör olabilecektir.

İlaçların çocukların kolayca ulaşabileceği yerlerde bulunması, özellikle de amitriptilin draje şeklinde olup çocuklar tarafından şeker sanılarak yenmesi, bu yaş grubunda amitriptilin ile olan zehirlenmelerin artmasının nedeni olabilir. İlaçların çocukların ulaşamayacakları yerde saklanması ve kolay açılmayan güvenli kapak uygulaması alınabilecek önlemler arasındadır.

Telefonla danışılan tüm zehirlenme olgularının sonuçlarına ulaşamaması da çalışmamızın bir kısıtlayıcı tarafıdır. Zehirlenmeler önlenemez ölüm nedenlerinden biri olduğundan, özellikle yüksek dozda alımlarda ölümle sonuçlanabilen ve/veya ciddi zehirlenmelere neden olabilen antidepresan zehirlenmelerinin yönetiminin bilinmesi önemlidir. Ayrıca majör depresyon intihar eğilimini de içinde barındıran bir hastalık olduğu için antidepresanlar ile intihar vakaları arasındaki ilişkinin mutlak araştırılması gereken bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır.

Kaynaklar

1. <http://www.ilacabak.com/prosp>. Prospektüs bilgileri. İnternet'ten 19 Ekim 2010'de elde edilmiştir. <http://www.ilacabak.com/prosp>
2. Reçetesiz antibiyotik satan eczanelere ağır ceza geliyor. İlaç Eczacılar Genel Müdürü Mahmut Tokaç, İnternet'ten 19 Ekim 2010'de elde edilmiştir. 2006-07-22 Zaman <http://www.zaman.com.tr>

3. Lai M, Klein-Schwartz W, Rodgers GC, Abrams JY, Haber DA, Bronstein AC, Wruk KM. 2005 Annual report of the American Association of Poison Control Center's National Poisoning and Exposure Database. Clin Tox 2006; 44: 803- 932.

4. Clinical Toxicology, 44:803-932, 2006; Copyright © American Association of Poison Control Centers; ISSN: 1556-3650 print / 1556-9519 online; DOI: 10.1080/15563650600907165; İnternet'ten 19 Ekim 2010'de elde edilmiştir. <http://www.aapcc.org/dnn/Portals/0/2005%20Published%20Annual%20Report.pdf>

5. Nurhan Özcan, Didem İkinçioğulları, 2008 UZEM personeli Ulusal Zehir Danışma Merkezi 2008 Yılı Çalışma Raporu Özeti; Sayfalar 29 – 58; Türk Hij. Den. Biyol. Derg. 2009; 66(3) Ek 3 (Düzeltilme; Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 2010; 67 (1): 1-12)

6. Kalkan S, Tuncok Y, Güven H. İlaç ve Zehir Danışma Merkezine bildirilen olgular. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 1998; 12(3): 275-283.

7. İlaç Endüstrisi İşverenler Sendikası, sektörel göstergeler, İlaç Pazarı / Tüketim; İnternet'ten 20 Ekim 2010'de elde edilmiştir. http://www.ieis.org.tr/asp_sayfalar/index.asp?sayfa=220&menuek=12

8. Akkas M, Coskun F, Ulu N, Sivri B. An epidemiological evaluation of 1098 acute poisoning cases from Turkey. Vet Hum Toxicol. 2004; 46 (4): 213-5.

9. MICROMEDEX(R) Healthcare Series Vol. 146 expires 12/2010

10. DSÖ Sağlık İstatistikleri Raporu; According to the World Health Organization 's World Health Report, these 15 causes of death make up about 58 percent of all deaths. İnternet'ten 20 Ekim 2010'de elde edilmiştir. <http://ucatlas.ucsc.edu/cause.php>

11. TTB Sağlık İstatistikleri 2006; İnternet'ten 20 Ekim 2010'de elde edilmiştir. <http://www.ttb.org.tr/kutuphane/istatistik2006.pdf>

Sorumlu Yazar: Dr. Selçuk YAKIŞTIRAN
T.C. Sağlık Bakanlığı, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Ulusal Zehir Danışma Merkezi,
Ankara-TÜRKİYE
Tel: 0(312) 458 23 16
E-mail: yakistiran@yahoo.com

Kronik Böbrek Hastalığında Laboratuvar

Laboratory Tests For Chronic Kidney Disease

Fatih BAKIR, Metin YILDIRIMKAYA

Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı, Ankara-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 08.11.2010

Kabul Tarihi: 22.11.2010

Özet

Kronik Böbrek Hastalığı (KBH) Amerikan Ulusal Böbrek Vakfı tarafından yayınlanan Kronik Böbrek Hastalığı Klinik Uygulama Kılavuzunda GFR' de azalma olsun veya olmasın, böbrekte 3 aydan uzun süren yapısal veya işlevsel bozukluklarla giden bir hasar olması veya GFR 'nin 3 aydan uzun bir süre 60 mL/dk/1.73 m²'den düşük olması olarak tanımlanmaktadır. Bütün dünyada giderek insidansı ve prevalansı artan bir halk sağlığı problemidir. Tanı ve takibinde laboratuvar testleri önemli bir yer tutmaktadır. Bu takipte en önemli iki test GFR ve proteinüridir.

Anahtar Kelimeler: Kronik Böbrek Hastalığı; GFR; Proteinüri.

Abstract

Chronic kidney disease is defined as "either kidney damage or decreased kidney function (decreased GFR) for 3 or more months" by National Kidney Foundation Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease. Chronic kidney disease is a worldwide public health problem with an increasing incidence and prevalence. The differential diagnosis of chronic kidney disease in a specific patient is based on laboratory evaluation. Most significant tests are GFR and proteinuria.

Key Words: Chronic kidney disease; GFR; Proteinuria

Tablo 1: Ulusal Böbrek Vakfı böbrek hastalıkları sonuçlarına ilişkin kalite çalışmaları grubu (NKF/K-DOQI) tarafından önerilen kronik böbrek hastalığı evreleri ve eylem planı (5)

Evre	Tanım	GFR (mL/dk/1.73 m ²)	Eylem
1	Artmış risk (KBH risk faktörleri var) Böbrek hasarı (Normal veya artmış GFR ile birlikte)	≥90 ≥90	Tarama, KBH riskinin azaltılması Tanı ve tedavi, eşlik eden sorunların tedavisi, progresyonun azaltılması, KVH riskinin azaltılması
2	Hafif GFR azalması	60-89	Progresyon hızını belirle ve önlem al
3	Orta düzeyde GFR azalması	30-59	Komplikasyonları değerlendir ve tedavi et
4	Ağır GFR azalması	15-29	Renal replasman tedavisi hazırlıklarına başla
5	Böbrek yetmezliği	<15(veya diyaliz)	Renal replasman tedavisi (eğer uremi varsa)

Kronik Böbrek Hastalığı (KBH) bütün dünyada giderek önemi artan bir halk sağlığı problemidir. 2000 yılında yapılan NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) çalışmasının verilerine göre Amerika Birleşik Devletlerindeki erişkinlerin %11.7'si olan 20 milyon birey erken dönem kronik böbrek hastalığından etkilenmiştir. (1) Bunların yaklaşık %0.2 lik kısmı olan 398.000 birey ise diyaliz veya transplantasyon gerektiren son dönem böbrek yetmezliği hastasıdır.(2) Türkiyede 2009 yılında Türk Nefroloji Derneği tarafından yürütülen Türkiye Kronik Böbrek Hastalığı Prevalansı Araştırması'na göre Genel yetişkin popülasyondaki KBH oranı %15,7 böbrek yetmezliği oranı ise %0,15 olarak rapor edilmektedir. Ayrıca Birleşik Devletlerde giderek artan yaşam beklentisi, diyabet, hipertansiyon gibi hastalıklar da KBH artışına yol açmaktadır. Yaşamın üçüncü on yılından sonra her yıl için Glomerüler Filtrasyon Hızında(GFR) yıllık % 1 kayıp oluşmakta ayrıca uzamış ömür bu hastalıkların ortaya çıkmasına zemin hazırlamakta, bunun yanında artrit, enfeksiyonlar, kanser, reflü gibi nefrotoksik ilaçlarla tedavi edilen hastalıklar yoluyla KBH'ye zemin hazırlamaktadır.(3) Diyabet KBH'nın en bilinen sebebidir ve erişkinlerde yaklaşık hastalığın üçte birinden sorumludur. Diyabetik hastaların %20-40'ında da hastalığın seyri sırasında diyabetik nefropati gelişimi söz konusudur (4).

Kronik Böbrek Hastalığı (KBH) Amerikan Ulusal Böbrek Vakfı tarafından yayınlanan Kronik Böbrek Hastalığı Klinik Uygulama Kılavuzunda "GFR' de azalma olsun veya olmasın, böbrekte 3 aydan uzun süren yapısal veya işlevsel bozukluklarla giden bir hasar olması veya GFR 'nin 3 aydan uzun bir süre 60 mL/dk/1.73 m²'den düşük olması" olarak tanımlanmaktadır (5). KBH için önemli olduğu düşünülen bir problem ise terminolojiden kaynaklanmak-

tadır. Kronik böbrek hastalığı, kronik böbrek yetmezliği, son dönem böbrek yetmezliği çeşitli kavramların kullanımında olması hastalığı anlamakta, takipte ve tedavide ortak bir anlayış oluşturulmasını zorlaştırmaktadır.

KBH için pek çok risk faktörleri bilinmektedir; Diyabet, hipertansiyon, obezite, otoimmün hastalıklar, sistemik enfeksiyonlar, idrar yolu nefeksiyonları, böbrek taşları, idrar yolunu tıkayan patolojiler, aile hikayesi, ilaçlara maruziyet, 60 yaş üstü olmak, etnik ve ırk olarak azınlıklara mensup olmak, düşük gelir ve eğitim düzeyinden olmak. Hastalığın ana sonucu böbrek yetmezliği gelişimi, yetersiz böbrek fonksiyonu gibi komplikasyonların gelişimi ve kalp damar hastalıklarının risk artışıdır. Bu komplikasyonların gelişmeden önlenmesi için her evrede eylem planı ve tedaviler tanımlanmıştır. KBH genellikle son evrelere kadar sessizce ilerleyen bir hastalıktır. Bu yüzden pek çok hastada semptom vermeden böbrek yetmezliğine ilerleyebilir. Bu nedenle asemptomatik bireylerin taranması hayati öneme sahiptir.

Böbrek fonksiyonlarının takibinde en hassas test GFR ölçümüdür. Kronik böbrek hastalığı olan tüm bireylerde yılda bir GFR saptanmalıdır. Klasik GFR ölçümleri klinik pratikte kullanılmayacak kadar hantal ve pahalıdır. Bunun yerine GFR kreatinin gibi endojen filtrasyon markerlerinden hesaplanarak belirlenir. Ancak burada laboratuvarlar ve yöntemler arası ölçüm farkları karşımıza önemli bir problem olarak çıkmaktadır. Kreatinin ölçümlerinde Jaffe metodu ile spektrofotometrik, end point ve kinetik, fotometrik yöntemler hala rutin laboratuvar da %80'e varan oranlarda ağırlıklı olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin pek çoğu kreatinin için gereken performans hedeflerini sağlayamamaktadır(6,7).

Tablo 2: KBH de proteinüri ve albuminüri sınırları (NA, not applicable.)

İdrar Toplama Metodu	Normal	Mikroalbuminüri	Makroalbuminüri veya Klinik Proteinüri
Total Protein			
24 saatlik atılım (yönteme bağlı değişir)	<300 mg/gün	NA	>300 mg/gün
Spot idrar dipstick	<30 mg/dL	NA	>30 mg/dL
Spot idrar protein-kreatinin oranı (yönteme bağlı değişir)	<200 mg/g	NA	>200 mg/g
Albumin			
24 saatlik atılım	<30 mg/gün	30-300 mg/gün	>300 mg/gün
Spot idrar albumin-spesifik dipstick	<3 mg/dL	>3 mg/dL	NA
Spot idrar albumin-kreatinin oranı (cinsiyete bağlı değişir)	<17 mg/g (erkek) <25 mg/g (kadın)	17-250 mg/g (erkek) 25-355 mg/g (kadın)	>250 mg/g (erkek) >355 mg/g (kadın)

Bunun yerine önerilen Kreatinin iminohidrolaza dayalı enzimatik, kinetik metod yeterince yaygınlaşmamıştır. Kreatinin ölçümlerindeki pozitif biasta düzeltme yoluyla giderilmektedir(8). Kreatinin ölçümlerinin böbrek fonksiyonlarını göstermesini kısıtlayan; kişinin kas kitlesi, etten zengin diyet, proksimal tübülde sekresyona uğraması gibi fizyolojik etkiler de söz konusudur (9). GFR hesaplamasını bütün bu etkilerden arındırmak amacıyla yaş, cinsiyet, ırk, vücut kitlesi gibi düzeltme faktörlerini kullanan formüller ortaya konmuştur. Bunların içinde en bilinenleri Cockcroft-gault ve MDRD (Modification of Diet in Renal Disease Study Group) formülleridir;

MDRD

$GFR (mL/dk/1.73 m^2) = 186 \times (Scr)^{-1.154} \times (yaş)^{-0.203} \times (0.742 \text{ kadın için}) \times (1.212 \text{ Afro-Amerikalı için})$ (konvansiyonel birimlerle)

Standardize Kreatinin için MDRD

$GFR (mL/dk/1.73 m^2) = 175 \times (Scr)^{-1.154} \times (yaş)^{-0.203} \times (0.742 \text{ kadın için}) \times (1.212 \text{ Afro-Amerikalı için})$ (konvansiyonel birimlerle)

Cockcroft - Gault Formülü

$GFR (mL/dk) = ((140 - yaş) \times Kilo) / (Scr) \times 72$ [0,85 kadın için]

Önce ortaya konan Cockcroft-gault formülü basit uygulaması nedeniyle yaygınlık kazanmıştır. Standardizasyonunda sağlıklı erkeklerde 24 saatlik idrar örneğinde kreatinin klerensi formülünün hesaplanmasında kullanılmıştır. Ancak tubuler kreatinin sekresyonu nedeniyle normalden yüksek GFR hesapladığının gösterilmesiyle kullanımını azalmıştır. Yapılan klinik çalışmalar bunların için-

de en fazla hassasiyete sahip olanın MDRD olduğunu göstermiştir. MDRD Kreatinin için yapılan standardizasyon çalışmalarından sonra MDRD formülü de modifiye edilmiştir. Bu formüller GFR hesaplamalarında kreatinine göre çok daha güvenilir sonuçlar vermektedir ancak kullanımlarının kısıtlı olduğu durumlar bulunmaktadır. Özellikle 20-60 mL/dk arasındaki orta düzeyli kayıplarda formüllerin hassasiyeti yeterli değildir. Bu formüllerin hesaplanmasında kreatinin değerinin sabit olduğu varsayılmıştır. Çocuk yaş grubunda, gebe kadınlarda, ampute kişilerde, vücut geliştirme sporu yapanlarda, obezlerde ve vejetaryenlerde kreatinin atılımı sabit değildir. Çocuklarda bu nedenle için Schwartz'ın denklemi önerilmektedir(10-13).

Schwartz denklemi

$GFR (mL/dk/1.73 m^2) = (0.41 \times boy) / (Scr)$

GFR nin 60 mL/dk üzerinde olduğu durumlarda formülün böbrek fonksiyonlarını göstermekte yetersiz kalması nedeniyle CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) çalışma grubu formülün yeni bir modifikasyonunu üretmiştir.(14)

CKD-EPI Formülü

$GFR = 141 \times \min(Scr/\kappa, 1)^\alpha \times \max(Scr/\kappa, 1) - 1.209 \times 0.993^{Age} \times 1.018$ [kadınlar için] $\times 1.159$ [siyahlar için]

Scr serum kreatinin (mg/dL), κ kadınlar için 0.7 erkekler için 0.9, α kadınlar için -0.329 erkekler için -0.411

Kreatinin atılımındaki değişkenlikler nedeniyle son yıllarda sistatin c ölçümleri popülerlik kazanmıştır. Vücuttaki yapımı kreatinine göre daha stabil olmasına rağmen serum düzeyi yaş, cinsiyet, ağırlık, sigara içimi gibi faktörlerden etkilenmektedir. 13 kDa ağırlığında lizozomal siste-

in proteinazdır. Glomerüllerden serbestçe süzülür ve sekrete edilmez. Kas kitlesi ve diyetten bağımsızdır. Ancak rutinde fazla ulaşılabilir olmaması kullanılmasını kısıtlamaktadır.(15)

Böbrek hasarının ilerlemesini gösterdiği için proteinürinin takibi KBH takibinde kritik öneme sahiptir.

Sağlıklı bireylerin idrarında düşük miktarlarda protein bulunur. KBH de idrara geçen proteinin cinsi etiyoloji hakkında fikir verir. Artmış albumin varlığı diyabet, hipertansiyon ve glomerüler hastalığı gösterir. Albumin idrarda yokken non-albumin protein varlığı düşük moleküler ağırlıklı proteinlerin reabsorpsiyonunun bozulduğu tübülointersitiyel hastalıklara işaret eder. Bu tip hastalıklar daha çok çocuk yaşlarda görüldüğü için erişkinlerde proteinüri ölçümünde albumin ölçümü tercih edilmelidir. Albumin ve protein ölçümlerinde pek çok metod bulunmaktadır. Albumin ölçümlerinde daha iyi bir standardizasyon varken protein ölçümlerinde aynı şeyden bahsetmek zordur. Bu ölçümler için pek çok örnek türü bulunmaktadır. 24 saatlik idrar örneği altın standart olarak kabul edilmesine rağmen günlük uygulamada oldukça zordur. Son zamanlarda protein/kreatinin veya albumin/kreatinin oranı ölçümlerinin spot idrardan yapılmasıyla 24 saatlik idrara olan ihtiyaç ortadan kalkmaktadır. Proteinürinin şiddeti KBH'nin progresyonu ve komplikasyonların gelişimi hakkında fikir

vermektedir. Kalitatif değerlendirmede protein 1+ ise 3 ay içinde kantitatif olarak teyit edilmelidir (Spot idrarda Protein/Kreatinin veya Albumin/Kreatinin oranı ile). İki hafta ara ile yapılan iki ya da daha fazla kantitatif değerlendirmede pozitiflik saptanan hastalar kronik böbrek hastalığı yönünden incelenmelidir. (Protein / kreatinin>200 mg/g, Albumin / kreatinin>30 mg/g) Tedavide proteinürinin ilerlemesinin durdurulması ve geriletilmesi amacıyla ACE inhibitörleri ve Anjiyotensin reseptör blokerleri kullanılmaktadır.(16,17)

Taze örnekte uzman tarafından yapılan idrar mikroskopisi oldukça değerli bilgiler verebilir. Hatta idrarın mikroskopik incelenmesi "fakir insanın böbrek biyopsisi" olarak isimlendirilmektedir. Glomerülo nefrit durumlarında eritrositler glomerül bazal membranını geçerken yapısında bozulma olur. Bu dismorfik eritrositler glomerüler hastalığın göstergesidir. Eritrosit silendirleri interstisyel hastalıklar dışındaki hastalıklarda gözlenirken, bu silendirle birlikte görülen yağ silendirleri ve yuvarlak yağ cisimcikleri glomerüler hastalığa işaret etmektedir.(3)

Kronik böbrek hastalığında sıvı-elektrolit düzeninin korunması, beslenme, büyüme, asidoz, renal osteodistrofi, anemi, hipertansiyon gibi komplikasyonların izlenmesinde pek çok laboratuvar testi kullanılmaktadır (18).

Tablo 3: KBH ve komplikasyonlarının takibinde laboratuvar

Araştırılan durum	İlgili Testler
Kronik böbrek yetmezliği tanı ve takibi	Kreatinin, eGFR, Albuminüri, Üre, Ürik asit, idrar analizi
Diyabet ve karbonhidrat metabolizması	Glukoz, Hb A1c,
Anemi ve değerlendirilmesi	Tan kan, Demir- Demir bağlama, Ferritin
Sıvı elektrolit dengesi	Na, K, Bikarbonat
Kemik metabolizmasının değerlendirilmesi	Kalsiyum, Fosfor, PTH, Vitamin D
İnflamasyon	CRP
Enfeksiyon ve bulaşma	Hepatitits C, B, HIV
Karaciğer fonksiyonları	Albumin, Bilirubinler, AST, ALT, ALP
Lipit profili	Kolesterol, Trigliserit, HDL-Kolesterol
Eser element değerlendirilmesi	Zn, Se, Al, Pb, Hg ve diğerleri

Kaynaklar

- 1.Coresh J,Byrd-Holt D,Astor B,et al:Chronic kidney disease awareness ,prevalence and trends among U.S.adults 1999 to 2000.J Am Soc Nephrol 16:180-188,2005
- 2.US Renal Data System: USRDS 2006 Annual Data Report, Bethesda, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2006
- 3.John W. Graves, MD,Diagnosis and management of chronic kidney disease,Mayo Clin Proc. 2008;83(9):1064-1069
- 4.Duaine D. Murphree, MD, and Sarah M. Thelen, MD,Chronic Kidney Disease in Primary Care,J Am Board Fam Med 2010;23:542-550.
- 5.National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification,and stratification. Kidney Disease Outcome Quality Initiative.Am J Kidney Dis. 2002;39(Suppl 2):S1-S266.
- 6.W. Greg Miller, Gary L. Myers, Edward R. Ashwood, Anthony A. Killeen, Edward Wang, Linda M. Thienpont, Lothar Siekmann (2005) Creatinine Measurement: State of the Art in Accuracy and Interlaboratory Harmonization. Archives of Pathology & Laboratory Medicine: March 2005, Vol. 129, No. 3, pp. 297-304.
- 7.Mauro Panteghini on behalf of the IFCC Scientific Division, Enzymatic assays for creatinine: time for action, Clin Chem Lab Med. 2008;46(4): 567-72.
- 8.Komenda P, Beaulieu M, Seccombe D, Levin A., Regional implementation of creatinine measurement standardization., J Am Soc Nephrol., 2008 Jan;19(1):164-9.
- 9.Stevens LA, Coresh J, Greene T, et al: Assessing kidney function - measured and estimated glomerular filtration rate. N Engl J Med 354:2473-2483, 2006
- 10.Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. Ann Intern Med. 1999 Mar 16;130(6):461-70.
- 11.Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang YL, Hendriksen S, Kusek JW, Van Lente F; Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. Ann Intern Med. 2006 Aug 15;145(4):247-54.
- 12.Cockcroft DW, Gault MH: Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. Nephron 16 :31 -41,1976
- 13.Schwartz GJ, Haycock GB, Edelmann CM Jr, Spitzer A. A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. Pediatrics 1976; 58: 259- 63.
- 14.Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Greene T, Coresh J; CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. Ann Intern Med 150(9):604-12. (2009)
- 15.Brian R. Lane, Emilio D. Poggio, Brian R. Herts, Andrew C. No-

vick* and Steven C. Campbell, Renal Function Assessment in the Era of Chronic Kidney Disease: Renewed Emphasis on Renal Function Centered Patient Care, THE JOURNAL OF UROLOGY, Vol. 182, 435-444, August 2009

16.Joseph A. Vassalotti, Lesley A. Stevens, and Andrew S. Levey, Testing for Chronic Kidney Disease: A Position Statement From the National Kidney Foundation, American Journal of Kidney Diseases, Vol 50, No 2 (August), 2007: pp 169-180

17.Stein Ivar Hallan1,2, Paul Stevens3, Screening for chronic kidney disease: which strategy?, JNEPHROL 2010 ; 23 (02): 147-155

18.Kai-Uwe Eckardt and Bertram L Kasiske. KDIGO Clinical Practice Guideline for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD), Kidney International 76, S1-S2 (August 2009)

Sorumlu Yazar:Dr. Fatih BAKIR

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Acil Biyokimya Laboratuvarı Sıhhiye-ANKARA -TÜRKİYE
Tel: 0(312) 508 58 42

Gama Kameralarının Kalite Kontrol Testleri**Quality Control Tests for Gamma Cameras**

Senay KILIÇ, Ümit Özgür AKDEMİR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nükleer Tıp Anabilim Dalı, Ankara-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 27.09.2010

Kabul Tarihi: 22.11.2010

Özet

Sintigrafik görüntülemenin temel araçları olan gama kameralarının düzenli olarak kalite kontrol testleri ile değerlendirilmesi doğru inceleme sonuçları elde edebilmenin ve hatalı sonuçlardan kaçınılabilmenin öncelikli koşuludur. Hangi kalite kontrol işlemlerinin hangi sıklıklarla uygulanması gerektiği çeşitli yönergelerde ele alınmış olsa da, her bir gama kamerasına uygulanması gereken kalite kontrol işlemleri kameranın teknik özelliklerine, kullanım biçimine ve kullanıldığı ortama göre değişkenlik gösterir. Tüm bu değişkenleri dikkate alarak her bir gama kamerası için özel bir kalite kontrol programı oluşturulması gerekir. Ayrıca tüm kalite kontrol testi sonuçlarının kaydedilmesi, kamera performansında meydana gelebilecek değişikliklerin saptanması ve giderilmesi bakımından önem taşır.

Anahtar Kelime: Gama kameraları; radyonüklid görüntüleme; kalite kontrolü

Abstract

The evaluation of gamma cameras, which constitute the basis of scintigraphic imaging, through regular quality control tests is the precondition of getting correct examination findings and avoiding erroneous results. Although the common requirements of a quality control program are suggested in several procedure guidelines, the composition of quality control tests for each gamma camera may vary according to the technical properties, usage and working environment of the camera. A specific quality control program taking all of these parameters into account should be constructed for each gamma camera. Additionally, the results of all quality control tests should be recorded because these records would facilitate the detection and repair of deviations in gamma camera performance.

Key Words:Gamma cameras; radionuclide imaging; quality control

Nükleer tıp uygulamaları radyasyon güvenliği, radyofarmasötikler ve cihaz performansları ile ilgili kalite standartlarının sağlanmasına yönelik çeşitli işlemler içerir. Bu yazıda bu işlemlerden gama kameralarına yönelik olan ve düzenli olarak uygulanması gereken rutin kalite kontrol testleri anlatılmaktadır. Ayrıca kısaca kabul testlerinde de bahsedilmektedir.

Bir nükleer tıp bölümünde konvansiyonel sintigrafik görüntüleme çalışmaları gama kameraları aracılığı ile yürütülür. Bu cihazlar hasta üzerinde bulunan radyoaktif mad-

delerin yaydığı gama radyasyonunu saptayarak hastaların fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri hakkında bilgi verir. Bu bilgilerin doğruluğu hastanın tanısı, tedavi planlaması ve takibi bakımından önemlidir. Sağlık hizmetlerinde doktorların başarısının önemli ölçüde çalışma ortamına bağlı olduğu bilinmektedir (1). Gama kamerasının düzgün çalışmaması durumunda hastalar için beklenen faydanın sağlanamaması yanında hastanın bu durumdan zarar görmesi de olasıdır. Dolayısıyla görüntülemenin temel unsurlarından olan gama kameralarının kalite kontrol işlemleri ile düzen-

li olarak değerlendirilmeleri gerekir.

Gama kameralarının kalite kontrol işlemlerinin geliştirilmesi, standart uygulamaların ve kabul kriterlerinin belirlenmesi için birçok uluslararası kurumlar tarafından yönergeler oluşturulmuştur. Avrupa nükleer tıp derneği fizik komitesinin yakın zamanlarda yayınlamış olduğu nükleer tıp cihazlarının kabul testleri ile ilgili yönerge (2) ve nükleer tıp cihazlarının rutin kalite kontrollerine yönelik önerileri (3) bu konuda önemli referanslardır. Ayrıca kalite kontrol yöntemlerinin ayrıntılı olarak açıklandığı çeşitli derlemeler bulunmaktadır (4-8).

Kabul Testleri

Gama kameralarının kalite kontrol işlemleri cihazların kurulumu aşamasında başlar. Bir gama kamerasının kurulumunda yapılan ilk kontrol testleri kabul testleri olarak adlandırılmaktadır. Kameranın özellikleri, üretim aşamasında uygulanan uluslararası standartlara uygun kalite kontrol testleri ile kamera üreticisi firmalar tarafından belirlenir. Bu testlerde elde edilen sonuçların kaydı tutulur ve üretici firma daha sonra bu sonuçları müşterisine verir. Üretici firma daha sonra kamerasının kurulduğu yerde, ilgili medikal fizikçinin kontrolünde gerekli fantomları ve yazılımları sağlayarak kabul testlerinin tamamını yeniden yapar. Kabul testleri testlerinin NEMA (National Electrical Manufacturers Association) kriterlerine uygun olması beklenir (3). Kabul testleri sayesinde kamerasının teknik performans özellikleri belirlenmiştir olur.

Kamerasının kabul testlerinde elde edilen sonuçlar üretim aşamasında elde edilen sonuçlar ile karşılaştırılır. Kabul testi sonuçları daha sonra yapılacak rutin kalite kontrol testleri için referans olarak kabul edilir. Benzer biçimde her bir kalite kontrol değeri bir önceki kontrolde elde edilmiş olan değer ile karşılaştırılır. Bu nedenle kalite kontrol testlerinin tüm sonuçlarının kaydı tutulmalıdır. Bu kayıtlar dijital olarak ya da bir kayıt defteri yardımıyla tutulabilir. Kameranın zaman içerisinde performansının değerlendirilebilmesi bakımından bu kayıtlar önemlidir. Kalite kontrol testlerinde elde edilen sonuçların uygun olmadığı durumlarda da sonuçların kayıt altına alınması önerilir. Bu kayıtlar daha sonra yaşanabilecek benzer sorunların giderilmesine yardımcı olacaktır. Kabul testlerinin yılda bir kere veya kamerasının bir parçasının değiştiği zaman tekrarlanması önerilmektedir (3).

Rutin Kalite Kontrol Testleri

Gama kameralarda kalite kontrol uygulamalarının iki önemli amacı vardır. Birinci amaç hastalardaki radyofarmasötik dağılımlarının görüntülere doğru olarak yansıtılmasını sağlamaktır. Bu sayede tanısal verilerin en yüksek kalitede olması; hastanın, toplumun ve çalışan personelin maruz kalacağı radyasyon dozlarının ise düşük düzeyde kalması sağlanır. İkinci amaç kameraların teknik servis hizmetinin kolaylaştırılması ve gerekli durumlarda

hasta çalışmalarının önceden ertelenebilmesini sağlamaktır. Hasta incelemelerinin randevu tarihinden önce ertelenebilmesi sayesinde hatalı tetkik sonuçları ve radyofarmasötiklerin gereksiz yere hazırlanıp ziyan olması önlenmiş olur.

Kurulum sonrasında klinik kullanımlarına başlanan gama kameralarının her gün hasta görüntülemelerine başlamadan önce performanslarının değerlendirilmesi gerekir. Tüm test sonuçları kamerasının performansında meydana gelebilecek değişiklikler bakımından incelenmeli ve kaydedilmelidir.

Önerilen Rutin Kalite Kontrol Testleri ve Uygulama Sıklıkları

Bu bölümde gama kameralarına uygulanması gereken periyodik kalite kontrol testleri, bu testler için önerilen yapıma sıklıkları anlatılmaktadır. Ek olarak bu testlerin ne amaçla yapıldıklarından ve test sonuçlarının nasıl değerlendirileceğinden bahsedilmektedir. Testlerin ne sıklıkla yapılacağı testin niteliği dışında, gama kamerasının ve bulunduğu çevrenin (sıcaklık, nem ve elektrik akımı bakımından) kararlılık durumuna bağlı olarak ayarlanabilir. Bu testlerin en kısa periyotlarla yapılması tavsiye edilmekle birlikte, kamerasının kararlı durumda olduğu gözlenmiş ise test uygulama sıklığı azaltılabilir. Ayrıca gama kamerasının kullanım biçimine (planar, tüm vücut veya SPECT görüntüleme) bağlı olarak da uygulanacak kalite kontrol işlemleri değişebilir (3).

Ulusal ve uluslararası protokoller referans kabul edilerek bir gama kamera için uygun kalite kontrol kameralar işlemleri belirlenebilir (Tablo 1). Bu yazıda bu testlerin çoğu hakkında bilgi sunulmuştur. Ancak tüm kalite kontrol testleri ile ilgili daha fazla bilgi için okuyucunun yönergelerden (2-3) ve bu konunun daha ayrıntılı olarak ele alındığı diğer kaynaklardan (4-8) yararlanması önerilir. Üretici firmalar tarafından önerilen test yöntemleri mevcut fantomlar, bilgisayar yazılımları ve yerel çalışma usulleri dikkate alınarak belirlenmektedir. Bu testlerde izlenecek yönergeler, yapıma sıklıkları ve sınır değerleri üretici firma tarafından ayrıntılı olarak bildirilmiş olmalıdır. Bazı kameralarda standart kalite kontrol testlerine ek olarak üretici tarafından önerilen ek kalite kontrol testlerinin de yapılması gerekebilir.

Nükleer tıp bölümlerinde standart kalite kontrol test yönergelerini referans alarak her bir gama kamerası için bir kalite kontrol programı oluşturulması önerilir. Ancak bu sayede test sonuçlarının tutarlılığından emin olunabilir ve kamerasının performansında meydana gelebilecek değişiklikler farkedilebilir. Son olarak, bir nükleer tıp bölümü içerisinde kullanılan tüm kamera, cihaz ve bilgisayarların saatlerinin senkronize edilmesi ve bunun en az haftada bir olacak biçimde kontrol edilmesi önerilir. Bu uygulama kalite kontrol testleri dahil olmak üzere, kameralarda elde edilen her türlü sayısal verinin doğru olarak analiz edile-

Tablo 1: Gama kameraları için önerilen kalite kontrol testleri ve bu testlerin yapıma sıklıkları. Bu tablo Avrupa nükleer tıp derneği fizik komitesinin yayınlamış olduğu yönergeye kısaltılarak alınmıştır (3).

Kamera Kullanımı	Kalite Kontrol Testi	Testin Yapılma
Sıklığı Planar Görüntüleme, Tüm Vücut Tarama, SPECT Görüntüleme	Genel Dış Değerlendirme	Günlük
	Enerji Penceresinin ve Zemin Aktivitesinin Kontrolü	Günlük
	İntrensek/Ekstrensek Homojenite Testleri - Niteliksel	Günlük
	İntrensek/Ekstrensek Homojenite Testleri - Niceliksel	Haftalık/Aylık,
	6 Aylık	
Tüm Vücut Tarama, SPECT Görüntüleme	Uzaysal Rezolüsyon ve Doğrusallık	Haftalık/ 6 Aylık
SPECT Görüntüleme	Dönme Merkezi Testi	Haftalık/ 6 Aylık
	Sistemin Duyarlılığı	Aylık / 6 Aylık
	Piksel Kalibrasyonu	6 Aylık
	Çoklu Pencere Uzaysal Registrasyonu	6 Aylık / Yıllık
	Kamera Sisteminin Toplam Performansı	6 Aylık / Yıllık

bilmesi için temel bir gerekliliktir.

Günlük Testler

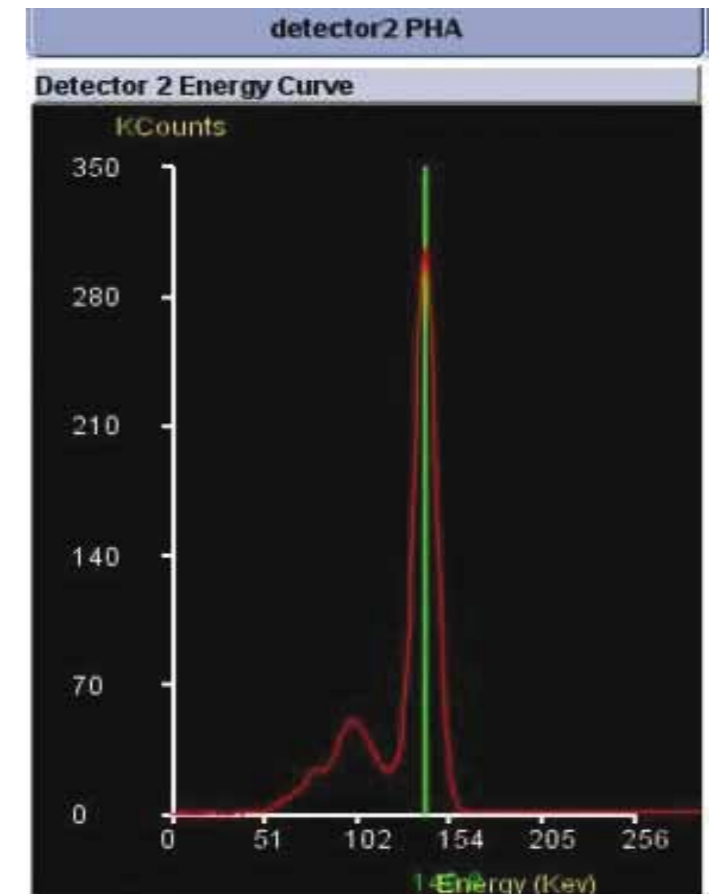
1- Genel Dış Değerlendirme

Her iş günü başında kamera kolimatörü ve detektörü olası bir hasar varlığı bakımından kontrol edilmelidir. Kamerada hastanın ve personelin güvenliğini tehlikeye atabilecek herhangi bir kusurun olup olmadığı değerlendirilmelidir. Kolimatörde hasardan kuşkulandığı zaman yüksek sayımlı ekstrensek homojenite testi yapılmalıdır.

Acil durum butonları ve kolimatör dokunma sensörleri kontrol edilmelidir. Kamera hareketi sırasında, kamera detektörünün hastaya veya bir engele beklenmedik bir biçimde çarptığı durumda hem acil durum butonları hem de kolimatör dokunma sensörleri çalışır durumda olmalıdır. Kolimatör dokunma sensörleri her kolimatör değiştirme işleminden sonra kontrol edilmelidir.

2- Enerji Penceresinin ve Zemin Aktivitesinin Kontrolü

Tc-99m fotopikinin doğruluğu bir enjektör veya şişe içerisindeki Tc-99m örneği ile enerji pikinin doğru yerleşip yerleşmediğine bakılarak kontrol edilir (Resim 1). Enerji pikinin radyonüklidin fotopiki ile örtüşmemesi durumunda alınan planar homojenite görüntülerinde foton çoğaltıcı tüplerin sıcak veya soğuk alanlar olarak belirginleştiği gözlenir (Resim 2). Tc-99m dışında kullanılan diğer radyonüklidler için de arca enerji penceresi ayarları kontrol edilmelidir. Bu testlerin yapıma sıklığı kamerasının özelliklerine ve farklı radyonüklidlerin kullanım sıklığına bağlı olarak belirlenebilir.



Resim 1- Enerji pikinin değerlendirilmesi. Gama kamerasında noktasal Tc-99m kaynağı kullanılarak enerji piki kontrol edilmiş ve enerji pikinin Tc-99m gama enerjisi olan 140 keV ile uyumlu olduğu gözlenmiştir.



Resim 2- Homojenitenin değerlendirilmesi. Detektörün enerji pikinin uygun olmaması nedeniyle foton çoğaltıcı tüplerin belirginleştiği ve dağılımın homojen olmadığı dikkati çekmektedir.

yonüklidler için de arıca enerji penceresi ayarları kontrol edilmelidir. Bu testlerin yapılma sıklığı kameranın özelliklerine ve farklı radyonüklidlerin kullanım sıklığına bağlı olarak belirlenebilir.

Ortamdaki radyoaktif madde kirliliğini ve kameradaki elektronik gürültü fazlalığını saptamak için zemin aktivitesi sayım hızı ölçülmelidir. Beklenen sabit ölçüm koşullarında zemin aktivitesi sayım hızının ölçümler arasında değişiklik göstermemesidir.

3- İntrensek/Ekstrensek Homojenite Testleri – Niteliksel

Gama kameralarında intrinsek ve ekstrensek homojenite testleri her iş gününde rutin incelemelere başlamadan önce yapılması gereken önemli kalite kontrol testleridir. İntrensek homojenite testi kolimatörsüz olarak yapılır. Ancak bu işlem sırasında kolimatörü çıkarılmış olan detektörün ve kolimatör arkasında yer alan kristalin darbelere karşı korumasız olacağı akılda tutulmalıdır. Kristalde meydana gelebilecek hasarların düzeltilmesi olanaklı değildir. Ekstrensek homojenite testi ise kolimatörlü olarak yapılır. Bu test ile kolimatördeki olası hasarların araştırılması hedeflenmektedir. Bu testlerde homojen bir görüntü elde edebilmek için farklı gama ışını kaynakları kullanılır. İntrensik uniformite testinde kristal çapının en az beş katı mesafede bulunacak biçimde bir noktasal Tc-99m kaynağı kullanılır. Ekstrensek homojenite testinde ise Tc-99m ile doldurulan veya Co-57 içeren düzlemsel kaynaklardan yararlanılır.

Homojenite görüntülerinde görsel olarak ayırt edilebilir küçük boyutlu sıcak veya soğuk alanlar bulunuyorsa, bunlar tomografik (SPECT) görüntülerinde halka (ring) artefaktı olarak karşımıza çıkar. Homojenite görüntülerinde foton çoğaltıcı tüplerin yerleri izlendiğinde, pik ayarının asimetric olarak fotopikin sağına ya da soluna yerleşmiş olduğu gözlenebilir. Görüntülerde bölgesel olarak geniş dalgalanmalar izleniyorsa, bu durum görüntülemenin yeterli sayım yoğunluğuna ulaşmadan sonlandırılmasına bağlı olabilir. Fotopik ile ilgili veya sayım yetersizliği gibi durumlar dışlandıktan/giderildikten sonra görüntülerde homojenite sorunu devam ediyorsa kameranın doğrusalılık ve duyarlılık düzeltmelerinin yapılması gerekebilir.

Haftalık Testler

1- İntrensek/Ekstrensek Homojenite Testleri – Niceliksel

Bu testler yüksek sayım yoğunluğunda alınan homojenite görüntülerinin değerlendirilmesine dayanır. Homojenite görüntülerinin sayısal olarak değerlendirilmesinde yeni gama kameralarında integral ve diferansiyel homojenite analizi yapan yazılımlardan yararlanılabilir (Resim 3). Bu



Resim 3- Homojenitenin sayısal olarak değerlendirilmesi. Düzlemsel kaynak ile alınan ekstrensek homojenite görüntüsünde kamera sisteminin yazılımı ile yapılan integral homojenite analizi sonucu gözlenmektedir. Görüntünün görsel ve sayısal olarak homojen olduğu izlenmektedir.

görüntüler kullanılarak fotopikin yer değiştirip değiştirmediği, kameranın düzeltme devrelerinin işlevlerini düzgün yapıp yapmadıkları değerlendirilir.

2- Uzaysal Rezolüsyon ve Doğrusallık

Kamera sisteminin uzaysal rezolüsyonu bar fantomu veya slit fantom kullanılarak değerlendirilir. Bar fantomu farklı kalınlıklarda lineer aralıklardan oluşan dört ayrı kadrana bölünmüştür. Ekstrensek değerlendirme yönteminde kolimatör ve düzlemsel kaynak arasına bar fantomu veya slit fantom yerleştirilerek görüntüleme yapılır. İntrensek değerlendirme yönteminde ise kolimatör çıkarılarak yerine fantom geçirilir. Görsel olarak ayırt edilebilen en yakın bar aralığı kamera sisteminin rezolüsyonunu gösterir. Ayrıca bu görüntüler görsel olarak kameranın doğrusalılığı hakkında bilgi verir. Gerçekte birbirine paralel olarak uzanan barların görüntülerde de birbirlerine paralel ve doğrusal uzandığı gözlenmelidir.

3- Dönme Merkezi Testi (“Centre of rotation”, COR)

Kamera sisteminin mekanik ve elektronik dönme merkezlerinin örtüşmesinin değerlendirilmesini sağlar. Kamera sisteminin özelliklerine göre üretici firma tarafından belirlenmiş farklı COR testi uygulamaları vardır. Bu testte kameranın detektörleri herhangi bir şeye dokunmadan bir nokta kaynak etrafında dönmelidir. COR testi klinik uygulamada kullanılan tüm kolimatör yapıları için ayrı ayrı yapılmalıdır. Eğer klinik çalışmalarda dairesel olmayan bir dönme yörüngesi kullanılıyor ise COR testinde de aynı dönme yörüngesi kullanılmalıdır. COR testinde X ve Y koordinatlarında gözlenen sapmanın 0.5 pikselin altında olması gerekir. Bu değer 40 cm'lik görüş alanı için yaklaşık 1-2 mm sapmaya karşılık gelir.

Daha Uzun Aralıklarla Yapılan Testler

1- Sitemin Duyarlılığı

Sistemin duyarlılığı kameranın gama ışınlarına karşı duyarlılığının ölçüsüdür. Bu değerlendirmede aktivitesi bilinen bir kaynak standart bir biçimde görüntülenerek kameranın birim aktivite için gördüğü sayım hızı değeri belirlenir. Değerlendirmenin her bir kolimatör için ayrı ayrı belirlenmesi gerekir. Periyodik kontrollerde bulunan değerler üretici firmanın verdiği referans değerlerle karşılaştırılır. Duyarlılığının zaman içerisindeki değişimini izleyebilmek için test sonuçları kayıt edilmelidir. Duyarlılığın bu şekilde izlenmesi kristalin gama ışınlarına verdiği yanıtındaki düzensizliklerin, enerji rezolüsyonundaki azalmanın, kolimatör hatalarının, voltaj ve puls yükseklik analizörü hatalarının belirlenmesini sağlar.

2- Piksel Kalibrasyonu

Gerçek piksel boyutunun belirlenmesi için yapılır. Özellikle SPECT görüntülemesinin yapıldığı kameralarda önemlidir. Bilgisayarda görüntü matrisi, gama kamerası tarafından tetkik edilen alanın haritasıdır. Görüntü matrisinin her bir resim elementi (piksel) kameranın bir bölümüne karşılık gelmektedir ve fiziksel bir büyüklüğe sahiptir. Piksel büyüklüğü SPECT görüntü kalitesini ve sayısallaştırmayı etkileyen önemli bir değişkendir.

3- Çoklu Pencere Uzaysal Registrasyonu

Bu test ile eş zamanlı olarak farklı enerji pencerelerinde alınan görüntülerin anatomik olarak çakışıp çakışmadığı değerlendirilmektedir. Konvensiyonel gama kameralarında puls aritmetik devrelerinde oluşan pozisyonlama sinyallerinin büyüklüğü gama ışının enerjisi ile artmaktadır. Bu sinyaller bir olayın pozisyonunu elde etmek için bazı referans enerjilere normalize edilir. Ancak düzeltme haritalarındaki hatalar veya verilen bir enerji için düzeltme haritasının uygun olmaması klinik uygulamalarda çözümü zor problemlere neden olabilir. Bu test için iki ayrı radyonüklidin görüntülenmesi yapılabileceği gibi, farklı ener-

jilerde gama ışınları yayan indiyum-111 veya galyum-67 gibi radyonüklidler kullanılabilir.

4- Kamera Sisteminin Toplam Performansı

Bu test tomografik görüntülerde homojenitenin ve kontrast ayırımının değerlendirilmesini sağlar. Bir SPECT performans fantomunun (Jaszczak fantomu gibi) görüntülenmesi ile gerçekleştirilir. Fantomun küre ve çubuk içermeyen, homojen bir aktivite ile doldurulmuş kesimleri ile homojenite; küre ve çubuklar ile oluşturulan sıcak ve soğuk lezyonlar ile kontrast ayırımı değerlendirilir. Ayrıca atenüasyon düzeltmesinin uygulandığı kamera sistemlerinde bu test ile atenüasyon düzeltmesinin yeterliliği de değerlendirilebilir.

Sonuç

Gama kameralarının klinik kullanımları kalite kontrol testlerinin düzenli olarak yapılmasını gerektirir. Bu testlerin mevcut yönergeler dikkate alınarak, kameranın teknik ve kullanım özelliklerine göre belirlenmesi ve her bir gama kamerası için özel bir kalite kontrol programı oluşturulması önerilir. Kalite kontrol işlemlerinin önemli bir boyutu da elde edilen tüm sonuçların, daha sonraki kontrol basamaklarına ve sorun gidermeye yardımcı olması nedeniyle kaydının tutulmasıdır.

Kaynaklar

- Lucignani G, Del Sole A. Nuclear medicine: what kind of quality would we want if we were the patient? Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2010 Nov;37(11):2194-8.
- Busemann Sokole E, Plachcinska A, Britten A. Acceptance testing for nuclear medicine instrumentation. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2010 Mar;37(3):672-81.
- Busemann Sokole E, Plachcinska A, Britten A, Lyra Georgosopoulou M, Tindale W, Klett R. Routine quality control recommendations for nuclear medicine instrumentation. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2010 Mar;37(3):662-71.
- Bor D. Nükleer Tıp Sayısal Görüntüleme Yöntemleri. Birinci baskı. Ankara. Bilim Yayıncılık. 2009.
- Demir M. Gama Kameralarda Kalite Kontrol Testleri. Turk J Nucl Med. 2001;10(4):217-227.
- Demir M. Nükleer Tıp Fiziği. Birinci baskı. Ankara. AB Ofset. 2000.
- Zanzonico P. Routine quality control of clinical nuclear medicine instrumentation: a brief review. J Nucl Med. 2008 Jul;49(7):1114-31.
- Groch MW, Erwin WD. Single-photon emission computed tomography in the year 2001: instrumentation and quality control. J Nucl Med Technol. 2001 Mar;29(1):12-8.

Sorumlu Yazar: Yrd. Doç. Dr. Ümit Özgür AKDEMİR
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nükleer Tıp Anabilim Dalı,
Ankara-TÜRKİYE

Tel:202 44 44

E-mail: o_akdemir@yahoo.com

Laboratuvar Güvenliği: Biyogüvenlik

Laboratory Safety: Biosafety

İsmail CEYHAN

Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 27.09.2010

Kabul Tarihi: 22.11.2010

Özet

Laboratuvar çalışanları enfeksiyöz madde, radyasyon, toksik ve alevlenebilir kimyasallar, tozlar, mekanik ve elektrik tehlikeleri gibi birçok farklı potansiyel mesleki sağlık tehlikelerine ve risklerine maruz kalmaktadır. Bunların hepsi de çok önemli olmakla birlikte burada daha çok klinik ve araştırma laboratuvarlarındaki biyolojik tehlikelerden ve biyogüvenlik önlemlerinden bahsedilmiştir (1,2). Tıbbi araştırma ve klinik laboratuvarlarda çalışanların laboratuvar kaynaklı enfeksiyon riski genel popülasyondan ve diğer sağlık çalışanlarından daha yüksektir(3,4,5). Laboratuvar kaynaklı enfeksiyonların ana kaynağı, enfeksiyöz maddeler ve kesici-delici ya da aerosol oluşturan cihazlarla çalışırken dikkatsizlik, ihmal, deneyimsizlik veya kötü tekniklerdir (1).

Biyogüvenlik ve laboratuvar güvenliğinin amacı çalışanı, birlikte çalışanı ve çevreyi korumaktır. Laboratuvar güvenliğinin ana stratejileri ise laboratuvar hijyeni, mühendislik önlemleri, eğitim ve kimyasal ve biyolojik maddelerin kullanımına ilişkin kuralların anlaşılması ve uygulanması ile güvenlik donanımları ve kişisel koruyucu donanımların seçimi-kullanımı ve tehlikeli atıkların bertarafı ile ilgili kurallardır (1,2,3,6).

Anahtar Kelime: Laboratuvar güvenliği; Biyogüvenlik.

Abstract

Laboratory workers are exposed to a variety of potential occupational health hazards and risks including those deriving from infectious substances, radiations, toxic and flammable chemicals, as well as mechanical and electrical hazard. Although all of them are significant, we will focus on biological hazards present in clinical and research laboratories and biosafety measurement (1,2). The the risk of laboratory-associated infection in employees of clinical and research laboratories is greater than other groups of health care workers (HCW) and in the general population (3, 4, 5). The main causes of laboratory acquired infection are carelessness, ignorance, inexperience or poor technique in the handling of infectious materials, needle sting or infectious aerosol producers (1).

Purpose of laboratory safety and biosafety is protect laboratory workers co-workers and environments. The main strategies of laboratory safety are understanding and applications of laboratory hygiene, engineering measures (e.g.laboratory design), training, and the regulations associated with the use of hazardous chemicals or biologicals, as well as selection and using of personal protective equipment, safety equipment and disposal of hazardous waste (1,2,3,6).

Key Words:Laboratory safety; Biosafety.

Giriş

Bugün bütün dünyada genelde çalışan güvenliği, özel olarak ise Laboratuvar Güvenliği hususunda uluslararası kurum ve kuruluşlar yoğun çalışmalar yürütmektedir. Gelişmiş ülkeler başta olmak üzere bir çok ülke ulusal veya kurumsal kurallarını veya standartlarını oluşturmaktadır. Ülkemizde de bu konuda İşçi Sağlığı ve Güvenliği Yönetmeliği (7), Kimyasal Maddelerle Çalışmalarda Sağlık ve Güvenlik Önlemleri Hakkında Yönetmelik (8), Biyolojik Etkenlere Maruziyet Risklerinin Önlenmesi Hakkında Yönetmelik (9) ve Radyasyon Güvenliği Yönetmeliği (10) gibi uygulamaya giren mevzuat yanında TS EN 12128 (11) ve Laboratuvarlarda güvenli çalışma teknikleri (12) gibi teknik dokümanlar da mevcut bulunmaktadır.

Ayrıca Tıbbi laboratuvarların güvenliği ile ilgili olarak sistematik ve standart kurallar bütününe içeren Uluslararası bir standart olan ISO 15190 (13) ve CWA15793 (14) iyi birer kaynak ve önemli kılavuzlar olarak kullanılmaktadır.

Laboratuvarlar güvenliği ve biyogüvenlik:

Sağlık çalışanları ve laboratuvar çalışanları sağlık hizmetleri sunumu esnasında çeşitli mesleki risklere maruz kalmaktadırlar. Sağlık çalışanları arasında en başta gelen mesleki riskleri; enfeksiyonlar, zehirler, kimyasallar, radyasyon, fiziki riskler (sıcaklık, toz, gürültü,) ve stres olarak sıralanabilir. Laboratuvar çalışanları için enfeksiyonlar ve kimyasal riskler en önemli riskler olarak sayılabilir(1,2).

Laboratuvar uygulamalarının çok ciddi ve hayati risklere sahip olduğu anlaşılmıştır. İlk kez 1941 yılında Meyer ve Edie laboratuvar kaynaklı 74 bruselloz vakası yayınlamışlardır. Sulkin ve Pike 1949 yılında 21'i ölümlü sonuçlanan 222 viral enfeksiyon bildirmişlerdir. 1976 yılında Pike tarafından yayınlanan sürveyansa dayalı bir başka çalışmada ise büyük çoğunluğu bakteriyel (%42.5) ve viral (%26.7) olmak üzere 3921 enfeksiyon bildirilmiş ve toplam %4.2 oranı rapor edilmiştir. Bunların yaklaşık %20'sinin sebebi bilinen bir laboratuvar kazasına, geri kalan kısmının ise büyük olasılıkla aerosol kaynaklı kontrolsüz laboratuvar uygulamalarına bağlı olduğuna karar verilmiştir (3,4).

Bilindiği gibi tıbbi laboratuvarlarda analiz ve araştırmalarda kullanılan kimyasal ve biyolojik maddeler ile çalışmalar için gerekli alet ve donanımdan kaynaklanabilecek çok sayıda risk ve tehlikeler bulunmaktadır. Bu tehlikeler uygunsuz alet, yanlış kullanım, yetersiz altyapı, kuralları dikkate almama, kötü alışkanlıklar, zayıf yönetim, dikkatsizlik, aşırı özgüven, yetersiz hazırlık, eğitim eksikliği gibi yapısal, bireysel ve/veya teknik sebeplerle ciddi sonuçlar doğurabilirler(15).

Bir laboratuvardaki en önemli ve sıklıkla karşılaştığımız tehlike ve riskler şunlardır (1,2,12):

- Dökülmeler-saçılmalar
- İğne ve diğer kesici-delici yaralanmaları

- Toksik kimyasal buharları
- Yaralanmalar
- Ağızla pipetaj sırasında yutma

Daha az sıklıkla ise;

- Hayvan ısırması/tırmalaması
- Patlamalar
- Ekzotermik (ısı veren) reaksiyonlar
- Yangınlar
- Elektrik çarpması

Laboratuvarlarda yaralanma ve hastalanmalar şu sebeplerden dolayı olmaktadır (1,15):

- Kötü uygulamalar
- Dikkatsizlik veya ihmal
- Deneyim eksikliği
- Standart uygulamalardan sapma

Laboratuvar güvenliği uygulamaları ilgili mümkün olan yerde tehlikelerin ortadan kaldırılmasını amaçlaya bir risk değerlendirmesini esas alır ve buna göre uygun alt yapı ve kuralları belirler. Bunun yapılamadığı durumlarda her bir tehlikeden kaynaklanan risk aşağıdaki öncelik sırasıyla

- Yerine alternatifini koyarak
- Kısıtlama yaparak veya
- Kişisel koruyucu önlemler ve donanım kullanılarak uygulanabilir düşük bir düzeye indirilmelidir (13).

Laboratuvar çalışanlarını korumaya yönelik çalışma alanlarında alınan önlemlerin başında yeterli fiziki alanın ve alt yapının uygun olarak tasarlanması gelir. Yangın önlemleri, koku, gaz ve enfeksiyon riski taşıyan havanın zararsız biçimde çalışma alanlarından uzaklaştırılması, temizlik ve dezenfeksiyon işlemleri için uygun malzemeler, çalışma konforu sağlayacak alanların ve fiziki yapının oluşturulması laboratuvar güvenliği için zorunludur. Ancak maksimum korunma için uygun koruyucu donanımların ulaşılabilir olmaları ve kullanımı, çalışanların eğitimi ve güvenlik kurallarına uymaları ile birlikte amaca uygun sağlık takibi güvenliğinin esasını teşkil eder (1,2,3,6).

Bir laboratuvarında insanlar, kültürler, tanı örnekleri, kimyasallar, atıklar, uygun olmayan çevre, donanım ve mobilya güvenliği tehdit eden veya tehlike oluşturan kaynaklardır. Laboratuvar çalışanlarını tehdit eden enfeksiyon ajanları bulaş yolları açısından 2 temel grupta yer alır.

Birinci grupta kan ve vücut sıvıları ile temas sonucu bulaşan enfeksiyonlar olup genellikle açık yaralar, mukoza veya sağlam derinin hasar görmesi (iğne batması, kesilmesi vb) nedeniyle gelişirler. 15-20 civarında mikroorganizma bu yolla bulaşabilir. Bu konunun başında ise HIV ve hepatit etkenlerinde Hepatit B, Hepatit C gelmektedir. Diğer grupta ise hava yolu ile bulaşan enfeksiyonlar olup en başta tüberküloz sayılabilir (3,5,16).

Ancak kategorik açıdan mikroorganizmaların patojenitesi, tedavi olanakları, bulaş yolu ve halk sağlığı açısından oluşturdukları tehlike ve tehdit gibi faktörler göz önüne alınarak 4 risk grubu tanımlanmıştır. Risk gruplarında yer alan her bir mikroorganizma için gerekli olan temel alt yapı, koruyucu önlemler ve donanımlar ile uygulamalar da risklere paralel 4 farklı seviye belirlenmiştir (Tablo 1.). Biyolojik canlı ajanlarla çalışan tüm laboratuvarlar, bireysel riskin ılımlıdan yükseğe kadar olan mikroorganizmalardan korunmaya uygun tasarım özelliklere sahip olmalıdır. Risk grup III ve üzerindeki organizmalarla çalışmaya yönelik tasarlanan laboratuvarlara daha fazla koruma için tasarım özellikleri ilave edilmelidir (2,6,9,13,17).

Belirli bir veya birkaç mikroorganizma çalışan merkezler veya referans laboratuvarları için uygun koruyucu seviyenin saptanması kolaylıkla mümkün olabilmektedir. Rutin tanı amacıyla hastane ve tıp merkezlerindeki laboratuvarlara gönderin klinik örneklerin içeriği çoğu zaman bilinmediğinden bu tür yerlerde öncelikle kan ve vücut sıvılarını yoluyla bulaşan mikroorganizmalara yönelik önlemler, “iyi laboratuvar uygulamaları” olarak bilinen kurallar ve

“evrensel önlemler” ön plana çıkmaktadır. Ayrıca potansiyel enfektif materyallerin içerisinde bulunabilecek mikroorganizmaların büyük çoğunluğu genel olarak risk grup 2’de yer almaktadır. Bu nedenle bu tür laboratuvarlar alt yapı ve mikrobiyal teknikler açısından minimum olarak Biyogüvenlik seviye-2 Laboratuvarı (BS2L) olması gereklidir (6, 17).

Laboratuvarların hem kimyasal hem de biyolojik açıdan güvenli fizik şartlarında birisi uygun havalandırma şartlarının oluşturulmasıdır. Atık duman oluşturan veya fazladan ısı, buhar, koku ve toksik madde yayan herhangi bir donanım genel çalışma alanlarından ya izole edilmeli ve/veya uygun tahliye bacası altına yerleştirilmelidir. Benzer şekilde manuel işlemlerden kaynaklanan istenmeyen veya tiksindirici kokuların oluştuğu yerlerde yerel veya mekanik havalandırma yapılabilir (2,13,17).

Biyolojik maddelerin çalışıldığı tüm alanların içinde özel el yıkama lavobası bulundurulmalıdır. Mümkün olduğu yerlerde elle açılıp kapatılan lavoba yerine harekete duyarlı, diz, dirsek veya ayak ile kumanda edilen donanım yerleştirilmelidir (13).

Tablo 1. Biyogüvenlik seviyeleri altyapı ve tasarım gerekleri (6)

Kurallar	Fiziksel Korunma Seviyesi			
	1	2	3	4
Laboratuvarın izolasyonu ¹	Hayır	Hayır	Evet	Evet
Laboratuvarın dekontaminasyon amacıyla sızdırmaz yapılabilmesi	Hayır	Hayır	Evet	Evet
Havalandırma				
İçeriye doğru	Hayır	İsteğe bağlı ²	Evet	Evet
Kontrollü ventilasyon	Hayır	İsteğe bağlı ²	Evet	Evet
Dışarıya HEPA ile filtrasyon	Hayır	Hayır	Evet/Hayır ³	Evet
Çift kapı-giriş çıkış	Hayır	Hayır	Evet	Evet
Hava kilidi (Air-lock)	Hayır	Hayır	Hayır	Evet
Duşlu hava kilidi	Hayır	Hayır	Hayır	Evet
Giriş (giriş odası)	Hayır	Hayır	Evet	-
Duşlu giriş	Hayır	Hayır	Evet /Hayır ⁴	Evet
Atıkların işleminden geçirilmesi	Hayır	Hayır	Evet /Hayır ⁴	Evet
Otoklav				
Ulaşılabilir yerde	Hayır	İsteğe bağlı ²	Evet	Evet
Laboratuvarın içinde	Hayır	Hayır	İsteğe bağlı ²	Evet
Çift Kapılı	Hayır	Hayır	İsteğe bağlı ²	Evet
Biyogüvenlik kabinleri	Hayır	İsteğe bağlı ²	Evet	Evet
Personelin izlenmesi ⁵	Hayır	Hayır	İsteğe bağlı ²	Evet

1 Laboratuvarın çevresel ve işlevsel izolasyonu (genel kullanım alanlarından)
2 Risk değerlendirmesi sonucu gerekli görülürse
3 Havanın dışarıya atıldığı yere ve çalışılan mikroorganizma(lar)ya bağlı
4 Çalışılan mikroorganizma(lar)ya bağlı
5 Pencere, kapalı devre monitörize izleme, çift yönlü iletişim vb

Asit-baz ve diğer aşındırıcı kimyasalların kullanıldığı yerlerde uygun ve hazır olarak acil duşlar, bulunmalıdır. Bu cihazların amaca uygun olarak çalıştığı düzenli şekilde kontrol edilmelidir. Bunun gibi acil duşların sayısı laboratuvarın boyutuna ve yapısına bağlı olarak değişir. Acil duşlardaki su sıcaklığı uygun olmalıdır. Zemin su gideri normal olarak bu tür acil duşlara yakın civarda bulunmalıdır (13).

Uygun havalandırmanın sağlandığını gösteren hava akış hızı izlenebilmeli ve toksik dumanların ve enfeksiyöz ajanların yayılmasından koruyan şekilde tasarlanmış olmalıdır (13).

Laboratuvarın seviyesi ne olursa olsun biyolojik maddeler ile çalışan kişilerin en azından iyi laboratuvar uygulamaları olarak bilinen kurallara uymaları zorunludur.

İyi laboratuvar uygulamaları(2,6,17,18):

1-Laboratuvarıda yemek-içmek ve makyaj yapmak yasaklanmalıdır., etc.

2-Ağıza hiçbir şey alınmamalıdır.

3-Kişisel koruyucular kullanılmalıdır.

4-Önlük giyilmelidir

5-Eller her çalışma sonrası mutlaka yıkanmalıdır.

6-Kesici aletlerle çalışırken çok dikkatli olunmalıdır.

7-Atıklar dekontamine edilmelidir.

8-Laboratuvar giriş ve çıkışlar kontrol altına alınmalı ve sınırlanmalıdır.

Evrensel önlemler (19,20):

1-Kan ve vücut sıvılarından cilt göz ve mukozaları korunmak için bariyer kullanılması,

2-Kan, enfektif materyal ve diğer potansiyel kirli maddeler veya yüzeyler için eldiven giyilmesi,

3-Kan ve vücut sıvıları ile çalışma esnasında sıçrama ve dökülmelerine karşı önlem açısından yüz koruyucu takılması,

4-Kan ve vücut sıvıları ile çalışma esnasında sıçramalara karşı önlem açısından önlük giyilmesi,

5-Ellerin ve derinin kan ve vücut sıvıları temasından hemen sonra yıkanması

6-Çalışmadan önce ve eldiveni çıkardıktan sonra ellerin yıkanması

7-Kesici ve delici aletlerle çalışırken dikkatli olunması, özellikle iğnelerin tekrar kılıfına sokulmaması,

8-Kesici delici atıkların delinmeyen, dayanıklı özel atık kaplarında biriktirilmesi,

9-Yaralanma ve iğne batmalarında buraların hızla ve iyice yıkanması aynı zamanda sorumluya haber verilmesi.

Hava ile bulaşan mikroorganizmalar için ise güçlendirilmiş (negatif basınçlı veya tek yönlü hava geçişi sağlanmış) seviye 2 laboratuvarları (BS2L+) veya Seviye 3 laboratuvarları önerilmektedir. Enfeksiyon riskinin yüksek olduğu alanlarda mümkün olduğu kadar hızlı bir şekilde partiküllerin havalandırılmasına (ventilasyonuna) yardım eder.

Sağlık tesisleri ve laboratuvarlarda risk değerlendirmesi sonucunda mühendislik önlemleri detaylandırılmalıdır. Ancak genel olarak bir laboratuvarıda en az 6-12 kez hava değişimi önerilmektedir. Diğer bazı alanlar için önerilen hava değişim hızları aşağıda gösterilmiştir(21,22,23,24).

• Mikrobiyoloji laboratuvarları: saatte en az 6 kez hava değişimi

•İzolasyon odaları, ayaktan tanı tedavi ve solunum odaları bronkoskopi ve otopsi odaları ile mikobakteri laboratuvarları: saatte en az 12 kez hava değişimi

•Acil alanları ve röntgen bekleme salonları: saatte 12-15 kez hava değişimi

•Operasyon odaları ve cerrahi alanlar: saatte en az 15 kez hava değişimi

Negatif basıncın kullanımı

Sağlık tesislerinde ve laboratuvarlarda hem biyogüvenlik hem de kimyasal güvenlik açısından genel veya özel durumlarda yapısal önlemlerin başında uygun havalandırma ve negatif basıncın doğru kullanılması gelir. Hava ile bulaşan mikroorganizmalardan korunmada artık yeni yapılacak binalarda risk değerlendirmesine uygun olarak negatif basınçlı sistemler kurulması önerilmektedir. İş akışının da hava akımına paralel temiz alanlardan kirli alanlara yönlendirilmesi gerekli durumlarda giren ve çıkan havanın filtre edilmelidir. Negatif basınç koridorlar gibi genel kullanım alanlarında bulaştırıcı partiküllerin dağılımını önler. Resirküle eden havalandırma sistemlerinde eksoz havası hiçbir zaman bu tür transit alanlara yönlendirilmemelidir. (21,22,23,24,25,26). Kimyasal tehlikenin olduğu yerlerde hava, çevre koşulları ve diğer binaların konumları da dikkate alınarak binanın güvenli noktalarından atmosfere atılmalıdır (2,13).

Mikrobiyal/Kimyasal Risk Analizi

Bir laboratuvarın seviyesi ve önlemlerin belirlenmesi açısından yapılması gereken işlerin başında gelir (2,6.17,27). Buna göre;

•Çalışmada kullanılacak tehlikeli materyalin (mikrobiyolojik ve/veya kimyasal) kullanım şartları,

•Bilgi kaynakları (Ürün güvenlik bilgileri,MSDS v.b.),

•Biyogüvenlik düzeyini ve/ya materyalin toksisite tipi,

•Muhtemel maruz kalma yolları,

•Toksik doz,

•Maruz kalma olasılığını en aza indiren işlemler/teknikler değerlendirilmeli ve en uygun koruyucu donanım ve işlemler seçilmelidir.

Güvenlik Donanımları

Biyogüvenlik kabinleri:

Biyogüvenlik kabinleri (BGK) çalışan personeli ve çevreyi korumak amacıyla hava akımı düzenlenmiş cihazlardır.

Bu cihazların en önemli iki özelliğinden biri amaca yönelik kontrollü hava akımı sağlaması, diğeri ise hava içerisindeki mikrobiyal partikülleri elimine etmesidir. Eliminasyon, BGK'ler içerisindeki mekanik hava ve ventilasyon yolu üzerine yerleştirilmiş HEPA (high efficiency particulate air) adı verilen filtre veya filtre sistemleri tarafından sağlanmaktadır. HEPA, 0.3 mikrondan daha büyük mikrobiyal parçacıkların %99.97'sini tutabilen borosilikat fiberden üretilmiş filtreler olarak bilinmektedir. Bu özellik patojen enfeksiyöz ajanları etkili şekilde tutarak mikroptan arındırılmış hava sağlama anlamına gelmektedir(6,17,28). Bugün HEPA filtreler kullanılarak imal edilmiş ve laminar hava akımı içeren BGK'lerden temel olarak farklı amaçla üretilen bir diğer kabin türü; temiz çalışma kabinleri (Clean Bench/TK)'dir. TK'ler yalnızca ürünü korumaya yönelik tasarlanmış temiz çalışma bankoları olup çevre ve personel koruması sağlamamaktadır. Bu tür kabinler tehlikeli biyolojik madde veya kimyasallar ile çalışırken kullanılamazlar (29).

Sınıf-I, Sınıf-II ve Sınıf-III olmak üzere üç sınıf BGK tanımlanmış durumdadır. Sınıf-II kabinlerin A ve B tipi olmak üzere iki tipi, her bir tipin ise A1/A2(B3) ve B1/B2 olmak üzere alt tipleri mevcuttur. Alt tipler arasındaki fark resirküle eden hava miktarları ve dış ortama bağlantı tipleri ile ilişkilidir. Sınıf-I kabinler çalışan kişiyi ve çevreyi potansiyel mikrobiyal enfeksiyon riskinden korumaya yönelik tasarlanmış çalışma kabinleridir. Ayrıca, doğrudan dış ortama bağlantı yapıldığında ve bazı ek önlemler alındığında (karbon filtre gibi) uçucu radyoaktif/kimyasal maddelerle daha güvenli çalışma sağlarlar. Basit tasarımları dolayısıyla primer işlev personel korumak amacıyla dünyada halen yaygın olarak kullanılmaktadır (6,17,29).

Sınıf-II biyogüvenlik kabinleri (BGK-II) personel ve çevre korunması yanında ürün korumaya yönelik olarak da

tasarlanmış olmaları dolayısıyla daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapısal olarak biraz daha karmaşık yapıya sahiptir. Sınıf- II kabinlerde de Sınıf-I kabinlerde olduğu gibi ön açıklıktan hava girmesine rağmen, sistem bu havanın çalışma alanında dolaşıma girmeden önce HEPA filtreler yönlenmesini sağlayacak şekilde tasarlanmıştır. Bu, dış ortam oda havasının doğrudan HEPA filtre/ler yönlendirilerek önce temizlenmesini sağlar. Daha sonra ise temiz havanın açıklıktan giren hava ile ön panelde "güvenli hava duvarı" oluşturacak şekilde çalışma yüzeyine laminar akım halinde akması sağlanır. Bir kısım hava egzoz tarafından kabin dışına atılır. Böylece hem çalışma yüzeyi temiz kalır hem de personel ve çevre korunmuş olur. Klinik materyal ile çalışan laboratuvarlarda ve risk grup 2-3 mikroorganizmalarla çalışılırken kullanılması önerilmektedir (6,17,29,).

Biyogüvenlik Kabinlerinin Seçimi:

BGK seçiminde dikkat edilecek en önemli nokta risk değerlendirmesidir. Çalışılacak materyal, mikroorganizma, test ve yöntemlerin potansiyel riskleri ve hangi amaçla yönelik olduğu (personel, çevre ve/veya ürün koruma) göz önüne alınarak BGK seçilmelidir. Ürün korunmasının önemli olmadığı durumlarda Sınıf-I kabinler kullanılabilir. Personel korunması yanında ürün korunmasının da önemli olduğu durumlarda Sınıf-II kabinler tercih edilmelidir. Uçucu kimyasal, toksik ve radyoaktif maddelerle çalışılacaksa oda içi resirkülasyon yapan BGK'ler kullanılmamalıdır. Klinik materyal ile çalışılması durumunda en uygun kabin Sınıf-II kabinlerdir. Ancak amaca yönelik olarak bazen Sınıf-I kabinler, bazen de Sınıf- III kabinler daha güvenli olabilir. Örneğin; tüberküloz şüpheli materyalin kültür için homojenizasyon-dekontaminasyon işlemlerinde Sınıf-I kabinler kullanılabilir. Tablo 2 koruma tipine göre seçilebilecek BGK'leri göstermektedir(6,17,28).

Tablo 2. Koruma tipine göre biyogüvenlik kabinlerinin seçimi.

Koruma tipi	Seçilebilecek BGK
Personel korunması, risk grup 1-3 mikroorganizmalar	Sınıf I, Sınıf II,veya Sınıf III
Personel korunması, risk grup 4 mikroorganizmalar (Suit lab)	Sınıf I, Sınıf II
Personel korunması, risk grup 4 mikroorganizmalar (kabin lab)	Sınıf III*
Ürün koruma	Sınıf-II, Sınıf-III
Uçucu radyoaktif/kimyasallardan korunma(az miktarlar için) (dış bağlantı yapılmış)	Sınıf-IIB1, Sınıf-IIA2(B3)
Uçucu radyoaktif/kimyasallardan korunma	Sınıf-I, Sınıf-IIB2, Sınıf-III

Otomatik pipetler:

Laboratuvarlarda patojenlerin yutulması veya solunmasını önlemek amacıyla ağızla pipetaj kesinlikle yasaktır. Otomatik pipetler güvenli ve standart bir şekilde sıvı aktarılmasına yardımcı olurlar. Ayrıca steril edilebilir olmaları tekrar kullanımlarına olanak tanır (2,6,17,30).

Çeker ocaklar

Daha çok analitik kimya laboratuvarları gibi zararlı kimyasallardan korunmak amacıyla kullanılırlar. Çalışma esnasında oluşan zararlı kimyasal buharlarını baca sistemine bağlı güçlü vakum etkisiyle ortamdaki hızla uzaklaştıran cihazlardır. Risk analizi yapılarak kimyasalın özelliklerine göre kurulması ve işletilmesi gereklidir. Geçimsiz kimyasallar için havanın birbirine karışması önlenmiş şekilde ayrı veya özel olarak tasarlanmış şekilde kurulmalıdır (2,30).

Biyogüvenlik taşıma kapları:

Tehlikeli biyolojik maddelerin kurum işçinde güvenli bir şekilde taşınmasını sağlayan sızdırmaz, kırılmaz, kimyasallara dayanıklı ve dezenfekte edilebilir veya tercihen otoklavlanabilir taşıma kaplarıdır. Bu grup kaplardan uygun olan bazı türleri kargo amacıyla da kullanılabilir (6,17).

Atık Kapları:

Kullanım amacına uygun olarak biyolojik, kimyasal ve kesici delici maddeler için ayrı özelliklerdedir. Kesici ve delici materyaller için dayanıklı kolayca delinmeyen dayanıklı-kilitli kapaklı olmalıdır (6,17).

Otoklav:

Enfeksiyöz maddelerin ve atıkların güvenli biçimde imha edilmesi amacıyla basınçlı sıcak buhar ile çalışan özel cihazlardır. Mikrobiyoloji ve biyokimya laboratuvarlarında kullanılırlar(6,17,27).

Kişisel Koruyucu donanımlar:

Önlük

Her laboratuvarında mutlaka işin niteliğine uygun bir önlük seçilmeli ve kullanılmalıdır. Bazı alanlarda tek kullanımlık olanları tercih edilebilir. Gerektiğinde ön kısmı suya dayanıklı ve geçirimsiz olabilir(6,17,30).

Eldiven

En temel koruyu donanımlardan biridir. Farklı özelliklerde kullanım durumlarına uygun olarak göre seçilmelidir(6,17,30).

Maske

Partiküller seviyedeki veya aerosol oluşturan işlemlerden doğan tehlikeleri bertaraf etmek ve solunum yollarından bulaşı önlemek amacıyla kullanılmaktadırlar. Bu amaçla enfeksiyonlardan korunmak için FFP2, FFP3 veya N95 tipi maskeler önerilmektedir. Kimyasal veya toksik buharlar için farklı tipte maskeler seçilmelidir (6,17,30).

Yüz koruyucular ve gözlükler:

İşlemler sırasında göz ve yüze sırcaların ve bulaşın önlenmesi amacıyla tercih edilmelidir. Kan ve vücut sıvılarının laboratuvarında özellikle santrifüj etme, karıştırma vb. işlemler sırasında göze doğrudan bulaşmasını engeller (6,17,30).

Atıklar:

Hem kimyasal hemde medikal atıklar güvenli şekilde bertaraf edilmelidir. Kimyasal atıklar kategorize edilmeli, laboratuvar koşullarında nötralize edilerek bertaraf edilebilecek olanlar ile doğrudan lavobaya dökülebilecekler dışındakiler ayrı ayrı toplanmalıdır. Kimyasal atıklar uygun atık tesislerinde imhası edilmelidir. Medikal atıklar uygun kaplarda biriktirilmeli, dekontamine edilmeli ve yetkili birimlere teslim edilmelidir (2,27).

Kaynaklar

1. World Health Organisation. Safety in health-care laboratories, WHO/LAB/97.1
2. Furr, A. K., CRC handbook of laboratory Safety CRC Pres 2000.
3. Sewell, D. L. Laboratory-Associated Infections and Biosafety., Clin. Microbiol. Rev. 8 (3) 389-405.
4. Pike, R. M. Laboratory-associated infections: incidence, fatalities, causes, and prevention. Annu. Rev. Microbiol. 1979. 33:41-66
5. Kimman TG, Smitt E and Klein R. Evidence-Based Biosafety: a Review of the Principles and Effectiveness of Microbiological Containment Measures. Clin. Microbiol. Rev. 2008, 21 (3): 403-425
6. World Health Organization. Laboratory biosafety manual. Third edition. Geneva, World Health Organization, 2004.
7. Biyolojik Etkenlere Maruziyet Risklerinin Önlenmesi Hakkında Yönetmelik; 10 Haziran 2004 tarihli Resmi Gazete; Sayı 25488,
8. Kimyasal Maddelerle Çalışmalarda Sağlık ve Güvenlik Önlemleri Hakkında Yönetmelik; 6 Aralık 2003 Tarihli Resmi Gazete; Sayı: 25328;
9. Biyolojik Etkenlere Maruziyet Risklerinin Önlenmesi Hakkında Yönetmelik; 10 Haziran 2004 tarihli Resmi Gazete; Sayı 25488,
10. Radyasyon Güvenliği Yönetmeliği; 24 Mart 2000 Tarihli Resmi Gazete; Sayı: 23999.
11. Türk Standardı TS EN 12128. Bioteknoloji, araştırma geliştirme ve analiz laboratuvarları, mikrobiyoloji laboratuvarlarının tecrit seviyeleri, risk alanları ve fiziksel güvenlik kuralları. Türk Standartları Enstitüsü. 2000.
12. Gümürlü F, Akbaş E, Özkan AT ve Ceyhan I, Laboratuvarında Güvenli Çalışma Teknikleri. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Ankara, 2006.
13. ISO 15190 Medical laboratories — Requirements for safety, 2003.
14. CWA 15793 (CEN Workshop Agreement 15793) Laboratory biorisk management Standard. 2008.
15. Ceyhan I, Laboratuvar Güvenliği (Seminer notları), Erişim tarihi 01/08/2010, Erişim: http://www.biyokimya.org/belge/ismail_ ceyhan_lab_guvenligi.pdf

16.Ionescu, G., Negut, M., Combiescu, A.A., Biosafety and biosecurity in the medical laboratory. Update and trends. Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol. 52(3-4):91-9. 2007.

17.Chosewood LC and Wilson DE (Eds). Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th Edition. Atlanta. Centers for Disease Control (CDC) Publication. 2009.

18.National Academy of Sciences, Biosafety in the Laboratory. Courtesy of the National Academy Press, Washington, D.C. 1989.

19.CDC, (Centers for Diseases Control and Prevention). Universal Precautions for Prevention of Transmission of HIV and Other Bloodborne Infections Erişim: http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/bp_universal_precautions.html. erişim tarihi: 11.09.2010

20.NCCLS. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline. NCCLS document M29-A NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 1997

21.CDC.Guidelines for Preventing the Transmission of Mycobacterium tuberculosis in Health-Care Settings, MMWR 2005; 54 (No. RR-17, 1-141)

22.Cataldi A, And Romano MI. Tuberculosis caused by other Members of the M. tuberculosis Complex. In:Palomino JC, Leão SC and Ritacco V (eds), Tuberculosis 2007: From basic science to patient care. First edition. TuberculosisTextbook.com. 2007: 283-315.

23.CDC.Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities. 2003 / 52(RR10);1-42

24.CDC. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and other bloodborne pathogens in health-care settings. MMWR 1988;37:377-388.

25.Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L, and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee, 2007 Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings, June 2007

26.Minister of Health Population and Public Health Branch Centre for Emergency Preparedness and Response, The Laboratory Biosafety Guidelines. 3rd Edition, Ottawa, Ontario. 2004.

27.Safety manual for researchers in biotechnology laboratories. European Community –Directorate General, Works and Social Affairs & Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro (IST) -Genova, Italy, August, 2001.

28.CDC (Centers for Diseases Control and Prevention). Primary Containment for Biohazards: Selection, Installation and Use of Biological Safety Cabinets. 2nd Edition. Atlanta 2000.

29.CDC, Primary Containment for Biohazards: Selection, Installation and Use of Biological Safety Cabinets. 2nd Edition. Atlanta 2000.

30.CDC, Personal Protective Equipment (PPE) in Healthcare Setting, Erişim: <http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ppe.html>

Sorumlu Yazar: Dr. İsmail CEYHAN
Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı
Sıhhiye/ANKARA-TÜRKİYE
E-mail: ismailceyhan@rshm.gov.tr

Malignant Fibrous Histiocytoma of the Right Cheek

Sağ Yanakta Malign Fibroz Histiositom

Rukiye GÜLBAHÇE¹, Canan ALTUNKAYA¹, Nuran SUNGU², Muzaffer ÇAYDERE¹, Hüseyin ÜSTÜN¹

¹Department of Pathology, Ministry of Health Ankara Training and Research Hospital, Ankara-TURKEY

²Department of Pathology, Ministry of Health Atatürk Training and Research Hospital, Ankara-TURKEY

Geliş Tarihi: 27.09.2010

Kabul Tarihi: 22.11.2010

Abstract

Malignant fibrous histiocytoma (MFH) constitutes about 20-25% of soft tissue sarcomas frequently present in the lower limbs with higher prevalence in the elderly and is reported to be encountered rarely in the head and neck region. Although atypical fibroxanthoma (AFX), a tumor that occurs primarily in older individuals after the skin of the head and neck has been damaged significantly by sun exposure and/or therapeutic radiation, is assumed to be a superficial variant of pleomorphic MFH, their solid relation is still controversial. At the present case, we present a female patient, 81 years old, with AFX on right side of her face and MFH at the same site, developed 8 months later. We report this case because of its developmental feature, location and rarity.

Key Words: Malignant Fibrous Histiocytoma; Atypical Fibroxanthoma; Cheek

Özet

Malign Fibroz Histiositom (MFH), yumuşak doku sarkomlarının %20-25'ini oluşturan, daha çok yaşlı hastalarda, sıklıkla alt ekstremitede görülen bir tümördür. Baş boyun bölgesinde görülmesi nadirdir. Atipik Fibroxantom (AFX), pleomorfik MFH un yüzeysel varyantı olarak kabul edilen, baş boyun bölgesinde, güneş maruziyeti ve radyasyon tedavisi sonrası hasarlanmış deride gelişen, sıklıkla yaşlı hastalarda görülen bir tümördür. AFX ile pleomorfik MFH'ın ilişkileri hala tartışmalıdır. 81 yaşında kadın hastada, sağ-yüz lokalizasyonlu AFX ve 8 ay sonra da sağ yanak lokalizasyonunda gelişen bir MFH olgusu rapor ettik. Bu özelliği ve nadir lokalizasyonu nedeniyle sunmayı uygun gördük.

Anahtar Kelime: Malign fibröz histiyositom; atipik fibroksantom; yanak lokalizasyonu

Introduction

Malignant fibrous histiocytoma (MFH) are shown to be the most frequently (%24.4) encountered forms of soft tissue tumors (1). Weis and Enzinger described characteristic and morphologic features of MFH in 1978 (2). The tumors have in common marked cytological and nuclear pleomorphism, often with bizarre tumor giant cells, admixed with spindle cells and often rounded histiocyte-like cells. Most these tumors occur in patients overage 40 age with peak inci-

dence 6th and 7th decades. (3). MFH tends to occur in deep soft tissue of extremities, abdominal cavity, and retroperitoneal spaces. However, it has been described in nearly every organ of the body, including head and neck where its prevalence is reported to be 3% (4). The diagnosis of MFH is done after eliminating other known sarcomas types. Therapeutic choices are surgery, radiotherapy, or a combination of both. The purpose of this article is to present a new case of this rare malignancy and to review of relevant literature. Difficulties in the differential diagnosis are discussed.

Case Presentation

An eighty-two years old female patient admitted Department of Otorhinolaryngology- Ankara Research and Training Hospital- Ministry of Health, with complaint of a swelling that had started one and half months earlier on her right cheek. Her medical history revealed that 2 years ago she suffered from a basal cell carcinoma resided at her right eyelid, atypical fibroxanthoma localized at her right alar wing of the nose 1 year earlier, and keratoacanthoma located at her left mandibular area 8 months ago. Besides, the patient had no history of radiotherapy. Maxillofacial tomography revealed a 2,5x2 cm in diameter nodular lesion at her masticator space, right lateral to orbicularis oris muscle, under the subcutaneous tissue. The lesion had smooth contour and showed homogeneous opacity (Figure 4). Radical tumor resection was comple-

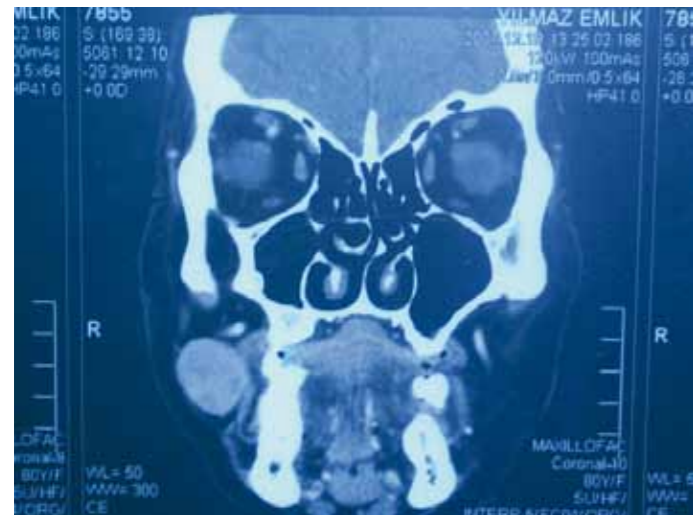


Figure 4- Maxillofacial tomography revealed a 2,5x2 cm in diameter nodular lesion at her masticator space, right lateral to orbicularis oris muscle, under the subcutaneous tissue. The lesion had smooth contour and showed homogeneous opacity.

ted by extended right superficial parotidectomy and right supraomohyoid neck dissection; the skin defect was covered by a regional bi-lobed flap. Post-operative chemotherapy was administered and at 6 month follow-up has been uneventful with no indication of recurrence and metastasis. The resected tumor specimen was sent to pathology department for histopathologic evaluation.. Macroscopic features of the specimen comprised pinkish to yellowish color, 7x4.5x4 cm dimensions, amorphous shape, and unevenly distributed hard consistency. Its cross-section 1cm deep to skin showed 2.5x2.5x1 cm nodular, well circumscribed grey colour, with no necrosis, haemorrhage or myxoid change lesion. The excised tissue was fixed in 10% formaldehyde, underwent routine histological procedures and embedded in paraffin for sectioning. Five-micrometer sections were taken and stained with H&E for histological studies. At microscopic evu-

lation we noted that the tumor was invaded into striated muscle bundles, peripheral nerves and subcutaneous fat tissues (Figure1). The tumor tissue consisted of lar-

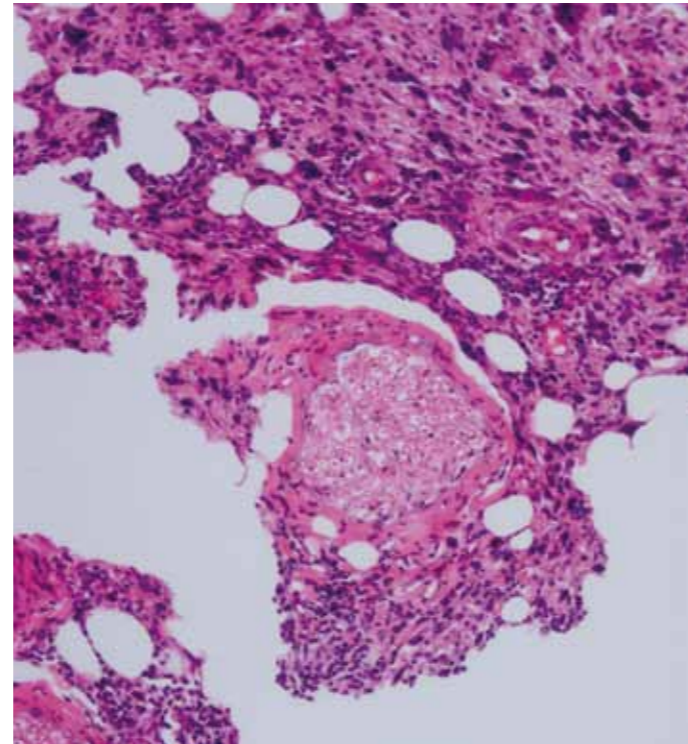


Figure 1- Observe the tumor located subcutaneously, invading to subcutaneous striated muscle, fat tissue, and peripheral nerves; H&Ex100.

ge hyper-chromatic, spindle shaped, bizaare multinucleated atypical mesenchymal cells which form their irregular bundles (Figure2).

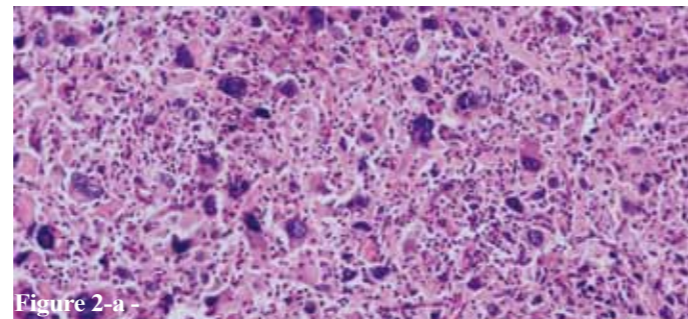


Figure 2-a-

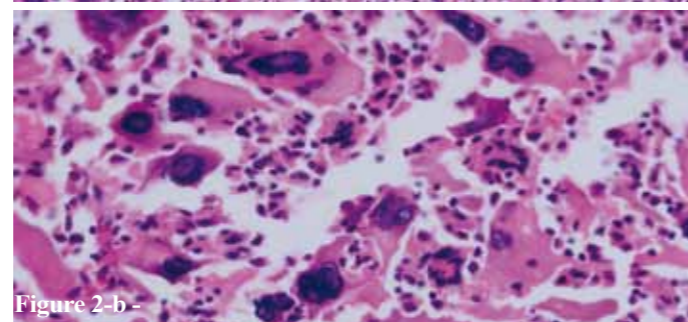


Figure 2-b-

Figure 2- Diffused anaplastic cells , indicating intense cellularity and nuclear pleomorphism; H&Ex200(a). Note that there are bizarre multinuclear tumor cells adhering to round histiocyte cell in addition to the presence of atypical and typical mitosis; H&Ex400(b).

Moreover, in the immunohistochemical staining the sections showed diffuse positive staining for CD68, vimentin, and alfa-1-antitrypsin (Figure 5) while had negative stai-

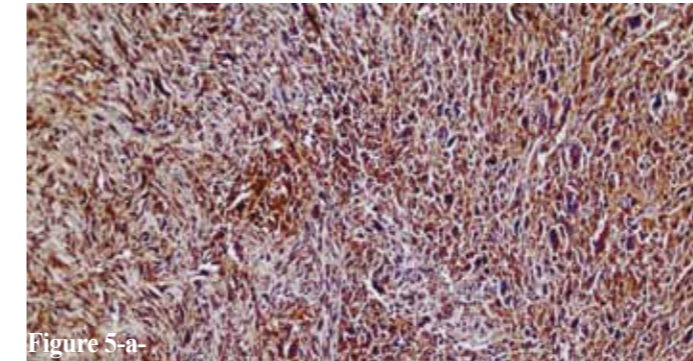


Figure 5-a-

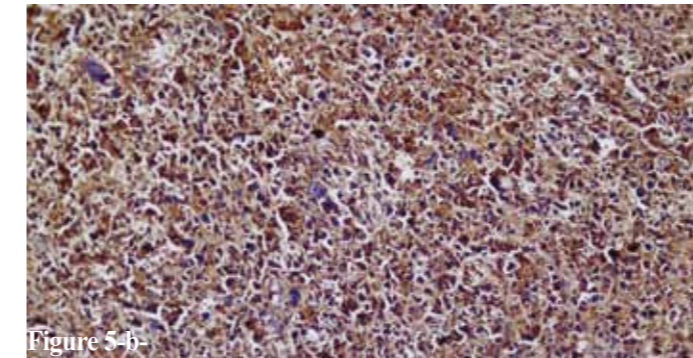


Figure 5-b-

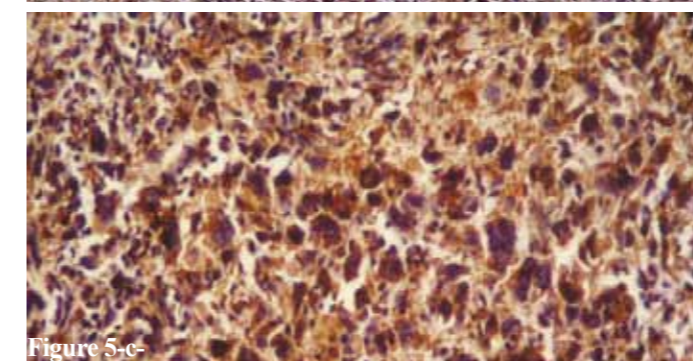


Figure 5-c-

Figure 5-Note the positive reaction of excised tumor sections for CD68(x100) (a) , alpha-1-antitrypsin (x100)(b) and Vimentine (x 200)(c) staining.

ning for panceratin, EMA (Epithelial membrane antigen) , HMB-45, myogenin, desmin. Also we had positive diffuse nuclear staining for p 53 in MFH and negative in AFX. AFX microscopic evuolation we noted lesion starts under the epithelium and demonstrates fascicular pattern, spindle, round and ovoid nucleated cells in addition to pleomorphic cells with obvious nucleolus (Figure 3).

The overall histological and immunohistochemical assessments of the resected specimen indicated that the tumor was pleomorphic MFH.

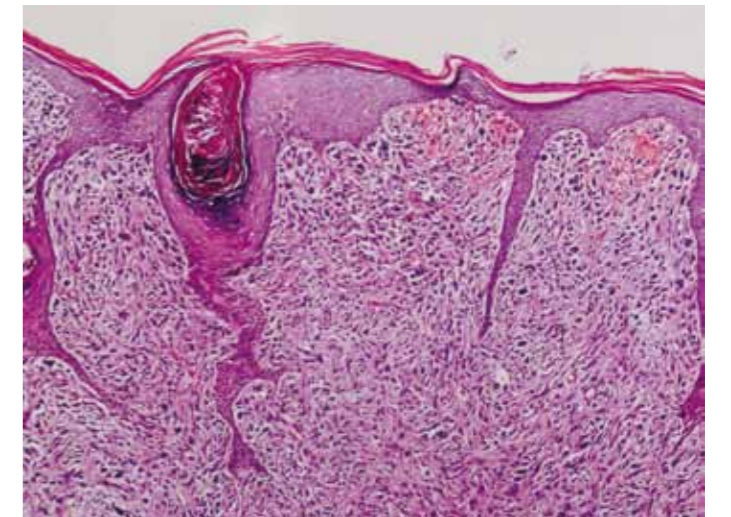


Figure 3- Atypical fibroxanthoma. Lesion starts under the epithelium and demonstrates fascicular pattern, spindle, round and ovoid nucleated cells in addition to pleomorphic cells with obvious nucleolus; H&Ex100.

Discussion

O'Brien and Stout recognized malignant fibrous histiocytoma, a pleomorphic sarcoma, as a distinctive neoplasm for the first time and it is likely to occur in adults (5). According to WHO classification pleomorphic MFH is an undifferentiated pleomorphic sarcoma that occurs in soft tissues and is grouped within the fibrohistiocytic sarcomas (3). The diagnosis of MFH should be made after distinguishing differential identification of other typical types of sarcomas such as liposarcoma, osteosarcoma, chondrosarcoma, and malignant schwannoma (6). Oda et al. reevaluated 428 cases diagnosed with MFH and confirmed the presence of actual MFH in 290 cases, leiomyosarcomas in 78, liposarcomas in 12, and dermatofibrosarcoma in 7 cases (7). Likewise, Yamaguchi et al. showed that only 7 of 32 patients who were identified with MFH located on oral and maxillofacial area had genuine MFH with a 3:1 male: female predominance (8).. Moreover, at their study covering 109 MFH patients, Belal et al. show that development of MFH occurs most frequently in the lower limbs (47%), upper limbs (18%), head/neck (16%), pelvis (5%), and other sites (5%).(9) The occurrence of MFH in deep soft tissues of the head and neck has rarely been reported. Development of MFH on head and neck region is account for 3% of all MFH cases with most frequent labionasals localization (10).

These tumors have marked cytological and nuclear pleomorphism, often with bizarre tumor giant cells, admixed with spindle cells and often rounded histiocyte-like cells in varying proportion. Storiform growth pattern and stromal chronic inflammatory cells common. The spindle cell component are most often appears fibroblastic, myofibro-



lastic or smooth muscle-like(3). Takayu Akai et al. report the presence of tumor at the cervicocranial junction and its microscopic examination revealed that the tumor cells had an irregular arrangement, marked atypia, and pleomorphism with multinucleated bizarre giant cells. The tumor was identified as mesenchymal tumor with unknown origin and was diagnosed with pleomorphic MFH (6).

Classical differential diagnoses are anaplastic carcinoma, rhabdomyosarcoma, pleomorphic leiomyosarcoma, and liposarcoma. The first possibility that should be considered in the differential diagnosis of MFH is anaplastic carcinoma, which is frequently localized in retroperitoneum at epithelial organs or around them and demonstrates positive staining for panceratine. Therefore, for the present case, we performed panceratine and epithelial membrane antigen (EMA) staining but observed no reaction. MFH may shows focal staining for panceratine (11) Rhabdomyosarcoma contains eosinophilic taped cells with large cytoplasm and shows myogenin reaction. In our case, similar to panceratine, we observed no staining for myogenin, suggesting that the tumor we removed was neither anaplastic carcinoma nor rhabdomyosarcoma. Dedifferentiated liposarcoma, commonly resided in retroperitoneum, is uncommon and contains benign differentiation and low-grade liposarcoma sites. The presence of pleomorphic lipoblasts is diagnostic for pleomorphic liposarcoma. Jose Alba et al. report presence of MFH on parotid gland. At their study, the tumor is shown to react with vimentine and SMA but not CD68, S100, cytokeratin AE1/AE3 (10). Similarly, Wien Klin et al. show the usefulness of alfa-1-antitrypsin, alfa-1-antichymotrypsin, in the immunohistochemistry for MFH (12).

Atypical fibroxanthoma (AFX) is cutaneous MFH and occurs primarily in older individuals after the skin of the head and neck has been damaged significantly by sun exposure and/or therapeutic radiation. Many AFX tumors may represent a superficial form of MFH with a much better prognosis. In addition, AFX constraints the skin with its accessories, spreading to subfascial spaces of the body but does not invade into deep tissues such as muscles (11). Recurrence of AFX as MFH has been reported. LyH et al. presents the transformation of AFX to MFH six months after the removal of the AFX on the face. The relationship between AFX and MFH is not clear (12).

For instance, when the factors that present a leading role in the pathogenesis of AFX and MFH are compared, no firm relation can be established. P53 mutations are shown to be in 67% of AFX and 0% of MFH patients (13), suggesting differential regulation in the pathogenesis of MFH. Similarly, Mirza et al. report no recurrence and metastases in 89 patients diagnosed with AFX apart from two patients who developed primer AFX for the second time (14). Grosso et

al. studies reveal cervical lymph node metastases in AFX patients with no local recurrence. In their study, primary and metastatic tumor reacted alike with alfa-1-antitrypsin and ferritin (15), indicating no transformation of AFX to MFH.

Localization site of MFH on the body is critical for survival. Five-year survival rate in patients having MFH on their head and neck area is 48% but this rate goes up to 77% in patients suffering from MFH localized on their limbs or bodies (16). Distant metastases of MFH are encountered in one-third of MFH patients and frequently include liver, lungs, and bones but rarely lymph nodes (10). Surgery is the essential treatment for all soft tissue sarcomas. The goal of surgery is to eradicate all lesion in the affected area. Radical complete of tumor is done with a negative margin indicates that there are no tumor cells on the periphery of the tumor implying that a complete resection is achieved. Post and pre-operative adjuvant chemotherapy and radiotherapy can be applied although their effect for the treatment of MFH is controversial (17).

In conclusion, MFH can be developed at the head and neck region with low incidence and can arise from AFX. In the present case, we noted development of MFH 8 months after the diagnosis of AFX on the face, an observation appealing further assessment and discussion to precisely diagnose the development and types of sarcomas. In addition, differential diagnosis of MFH should be done carefully and not to be confused with other sarcoma types. Careful histological and immunohistochemical studies should be utilized in the proper diagnosis of the MFH.

References

- 1- Kransdorf MJ(1995). Malignant soft-tissue tumors in large referral population; distribution of diagnoses by age, sex, and location. *AJR*; 164: 129-34
- 2- Weiss SW; Enzinger FM(1978). Malignant fibrous histiocytoma; an analysis of 200 cases. *Cancer (Phila)*; 41: 2250-2266
- 3- Christopher D.M. Fletcher, K. Krishnan Unni, Fredrik Mertens (2002). World health organization classification of tumors. Pathology and Genetics of tumors of soft Tissue and bone. IARC Pres, Lyon
- 4- Rapidis AD, Andressakis DD, Lagogiannis GA, Douzinas EE(2005). Malignant fibrous histiocytoma of the tongue; review of the literature and report of a case. *J Oral Maxillofac Surg*. 63(4) ;546-50
- 5- O'Brien JE, Stout AP(1964).Malignant fibrous xanthomas. *Cancer*; 17: 1445-1455
- 6- Takuya Akai, Kenji Yamamoto, Takaaki Iida Hideaki Iizuka. Takayuki Nojima(2006). Malignant fibrous histiocytoma in the craniocervical junction presenting with severe occipitalgia. *Brain tumor Pathol*; 101-105
- 7- Oda Y, Tamiya S, Oshiro Y(2002). Reassessment and clinicopathological prognostic factors of malignant fibrous histiocytoma of soft

parts. *Pathol Int* 52; 595-606

8- Yamaguchi S sawa H, Suzuki T, Fuji E, Iwaki H, Takagi M, Amagasa T(2004). Sarcomas of oral and maxillofacial region; a review of 32 cases in 25 years. *Clin oral Investig*. 8(2): 52-5

9- Belal A, Kandil A, Alam A, Khafaga Y, El-Husseiny G, El-Enbaby A(2002).Malignant fibrous histiositoma; a retrospective study of 109 cases. *Am J Clin Oncol*. 25; 16-22.

10- Jose Ramon A, Miguel Armengot Carceller, Enrique Zapater Latorre, Ana Perez V,Jorge Basterra A(2008). Malignant fibrohistiocytoma of parotid region; *Med oral Patol Cir Bucal*.13(2); 148-50

11- Sharon W.Weiss,John R Goldblum(2008).Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors 5 th edition Mosby Elsevier USA

12- Ly H, Selva D, James CL, Huilgol SC(2004). Superficial malignant fibrous histiocytoma presenting as recurrent atypical fibroxanthoma: *Australas. J Dermatol*. 45 (2) : 106-9

13-Sakamoto A, Oda Y, Itakura E(2001). Immunoepration of ultraviolet photoproducts and p53 Mutation Analysys in atipical fibroxantoma and superficial malignant fibrous histiocytoma. *Mod Pathol*. 14(6): 581-588

14- Mirza B, Weedon D(2005). Atypical fibroxanthoma: a clinicopathological study of 89 cases.;*Australas. J Dermatol*. 46(4) 235-8

15-Grosso M, Lentini M, Carrozza G, Catalana A (1987).; Metastatik atypical fibroxantoma of skin; *Pathol Res Pract*. 182(3):443-7.

16- Sabesan T, Xuexi W, Yongfa Q(2006). Malignant fibrous histiositoma :outcome of tumors in the head and neck compared with those in the trunk and extremities. *Br J oral Maxillofac Surg*. 44: 209-212

17- Seper L, Schwab R, Kiattavorncharoen S(2007). Malignant fibrous histiocytoma of the face: report of a case.; *Head Face Med*. 18: 3:36

Corresponding Author: Canan ALTUNKAYA, PhD (MD)
Department of Pathology,

Ministry of Health Ankara Training and Research Hospital, Ankara-TURKEY

Email: altunkayacanan@hotmail.com

Phone: 0 (312) 595 36 42

OLGU PATOLOJİ



OLGU PATOLOJİ MERKEZİ
Lab: Mithatpaşa Cad. 51/6 Kızılay - ANKARA
Tel: 0 (312) 431 10 95 & Fax: 0 (312) 430 13 33

Vaka Sunumu

Zuska Hastalığı (Laktiferöz Fistül)

Zuska's Disease (Lactiferous Fistula)

Emine ÖZTÜRK¹, Cüneyt YÜCESOY¹, Binnur ÖNAL², Meltem ÖZDEMİR¹, Baki HEKİMOĞLU¹

¹Sağlık Bakanlığı Ankara Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Radyoloji Kliniği, Ankara/TÜRKİYE

²Sağlık Bakanlığı Ankara Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Kliniği, Ankara/TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 05.11.2010

Kabul Tarihi: 22.11.2010

Özet

Zuska hastalığı (laktiferöz fistül, rekürren subareolar abse), memede tek veya çift taraflı olabilen, tekrarlayan subareolar yerleşimli apse ve fistül, meme başından koyu kıvamda akıntı ve areolada kalınlaşma ile karakterize, nadir karşılaşılan bir patolojidir. Etiyolojik faktör olarak immünolojik veya hematolojik anormallik gösterilemeyen, duktusun lümeninin keratin plak ile tıkanmasına sekonder gelişen bir tablodur. Tanı ve tedavisi zorluk gösteren bu patolojinin bilinmesi, klinik ve radyolojik bulguların değerlendirilmesine yardımcı olacaktır. Bu makalede Zuska Hastalığı tanısı alan 49 yaşındaki bayan hastanın mamografi ve ultrasonografi bulgularını sunmayı ve literatür bilgileri eşliğinde olgulara önerilen tedavi yöntemlerini tartışmayı amaçladık.

Anahtar Kelime: Laktiferöz fistül; meme; tekrarlayıcı subareolar abse

Abstract

Zuska's disease (lactiferous fistula, recurrent subareolar abscess) is an uncommon pathology characterized by recurrent subareolar abscess and fistula formation, nipple discharge and thickening of areola. There are not a hematological or immunological etiology factors. It is caused by plugging of ducts within the nipple by keratin. Diagnosis and treatment of this disease may be complicated. Awareness of Zuska's disease can facilitate the evaluation of clinic and radiologic findings. In this case report, we present mammographic and ultrasonographic findings of Zuska's disease in a 49 years old female patient and discuss the recommended treatment methods.

Key Words: Lactiferous fistula; breast; recurrent subareolar abscess

Giriş

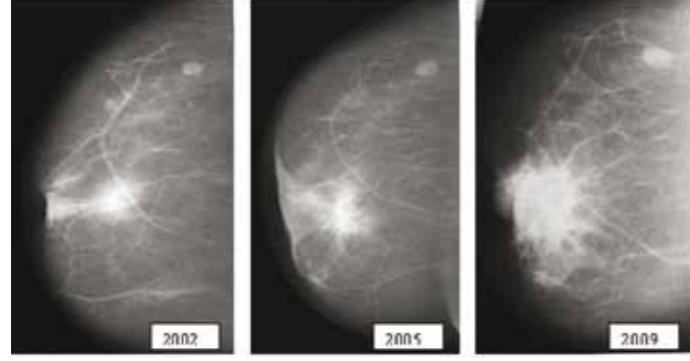
Kronik tekrarlayıcı subareolar abse/laktiferöz fistül, tanımlanması ve tedavisi güçlük gösterebilen klinik bir tablodur. Subareolar abse ile laktiferöz fistül ilişkisi ilk kez Zuska tarafından ortaya konulmuştur (1). Bu klinik tabloda patogenez, meme başı düzeyindeki terminal duktusların skuamöz debris ile obstrükte olması ve bunu takiben oluşan duktal dilatasyon ve staz üzerine sekonder enfeksiyon gelişmesi ile abse formasyonun ortaya çıkması şeklinde tanımlanmaktadır (3,4). Enfekte dilate segment üzerin-

deki cildin iyileşmesi subareolar abse, cildin iyileşmemesi kronik laktiferöz fistül ile sonuçlanmaktadır (2). Bu klinik tablonun tanısında ve uygulanacak yaklaşımın belirlenmesinde radyolojik tetkikler yardımcı olacaktır. Radyolojik olarak saptanan subareolar yerleşimli komplike kistik lezyonlarda (özellikle tekrarlayıcı nitelikte ise) ve areola düzeyine açılan fistül traktlarının varlığı durumunda ayırıcı tanı listesinde bu tablo da yer almalıdır. Tekrarlayan subareolar abse ve laktiferöz fistül tanısı alan olgumuzun mamografi ve meme ultrasonografi bulgularını sunuyoruz.

Olgu Sunumu

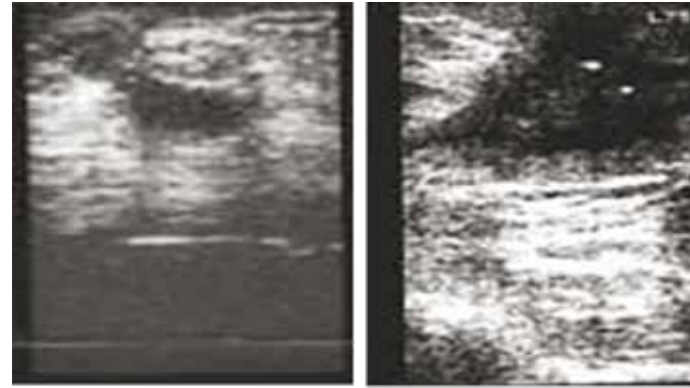
Ele gelen kitle, meme başında retraksiyon ve areola kenarında ciltten pürülan akıntı şikayeti ile ünitemize başvuran 49 yaşındaki bayan hasta; mamografi, meme ultrasonografi (US) incelemesi ve takiben US eşliğinde yapılan biyopsi işlemi ile değerlendirildi.

Olgunun bilateral mamografi incelemesinde; sağ meme normal sınırlar içinde idi. Sol meme retroareolar bölgede meme başında retraksiyona neden olan, düzensizlik kenarlı asimetrik dansite alanı (3.5x2.5 cm) saptandı (Resim 1 a, b, c). US incelemesinde bu alanın düzensiz sınırlı, solid,



Resim 1-a-b-c- Olgunun sol kraniokaudal mamografi incelemesinde retroareolar alanda meme başı ile ilişkili asimetrik dansite alanı (a), takip eden yıllarda asimetrik dansitede gelişen düzensiz sınırlı ve meme başı retraksiyonu (b) ve asimetrik dansite alanındaki boyut artışı izleniyor.

hipoekoik ve cilde fistülizasyon gösteren kitle ile uyumlu olduğu görüldü (Resim 2 a, b). Hastanın 7 yıl önce meme



Resim 2-a-b- Olgunun şikayetlerinin başladığı dönemde yapılan US incelemesinde retroareolar alanda komplike vasıfta kistik lezyon (a) ve takipte gelişen düzensiz sınırlı solid lezyon izleniyor.

başı retraksiyonu ve ele gelen kitle şikayeti nedeni ile yapılan US incelemesinde subareolar alanda sonografik olarak komplike vasıfta kistik lezyon saptandığı görüldü. Tanımlanan lezyondan yapılan ince iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB) sonucunun akut inflamasyon bulguları içermesi nedeni ile antibiyotik tedavisi başlandı ve bu tedaviden kısmen yarar gördüğü, 7 yıl içinde şikayetlerinin tek-

rarlaması nedeni ile dört kez İİAB, dört kez de eksizyonel biyopsi işlemi uygulandığı, bu patolojik incelemeler sonucunda kronik inflamasyon bulgularının saptandığı anlaşıldı.

Olası malign patolojinin ekartasyonu amacı ile US eşliğinde İİAB yapıldı. Sitolojik inceleme sonucu duktus lümeninde skuamöz hücreler, ile polimorf nükleer lökosit, multinükleer dev hücreler, matür lenfositlerde oluşan debris alanlarının ve periduktal alanların mevcudiyeti bildirildi. Hastanın mamografi ve meme US bulguları, histopatolojik inceleme sonucu, hastanın hikayesi ile birlikte değerlendirildiğinde Zuska hastalığı (tekrarlayan subareolar abse/laktiferöz fistül) tanısı konuldu.

Tartışma

Kronik tekrarlayıcı subareolar abse ve laktiferöz fistülü (Zuska hastalığı) tanımlaması zorluk gösteren ve standart bir yaklaşım metodu olmayan, hasta ve hekimler açısından rahatsızlık verici bir klinik tablodur. Tekrarlayan subareolar abse ve laktiferöz fistül ilişkisi ilk kez Zuska tarafından 1951 yılında tanımlanmıştır (1). Bu tablonun patogenezi ise Patey ve Thackray (3) ile Habif ve ark.'ları (4) tarafından tanımlanmıştır. Meme başı düzeyindeki terminal duktuslarda gelişen skuamöz metaplaziye ait debrislerin duktusta obstrüksiyon, dilatasyon ve staza yol açtığı, bu zeminde oluşan sekonder enfeksiyonun abse gelişimine ve sıklıkla areola kenarına fistülizasyona neden olduğu bildirilmiştir. Subareolar alanda gelişen abse odağının üzerindeki ciltte iyileşme olması halinde lezyon tekrarlayan abse, cildin iyileşmesi halinde ise kronik laktiferöz fistül ile sonuçlandığı vurgulanmaktadır. Alttı yatan skuamöz metaplazinin sigara içimi ile ilişkili olduğu vurgulanmaktadır (5). Bizim olgumuzda sigara içimi öyküsü mevcut değil idi.

Subareolar abse ve laktiferöz fistülün klinik önemi; uygun olmayan tedavi yöntemlerinin uygulanması durumunda sık nükslerin görülmesi ve kozmetik problemlerin oluşması ile ilişkilidir. Klinik olarak bu hastalık enfeksiyöz olmayan meme başı patolojilerinden ve malignitelerden ayırd edilmelidir. Lannin R.D., 67 olguyu içeren geniş seri ve uzun süren takip sonuçlarını yayınladığı çalışmasında, pürülan olmayan meme başı akıntısı yada meme başından uzak yerleşimli abseleri bu hastalık grubunda değerlendirmediğini, bu hastalık için areola çevresinde akut yada kronik inflamasyon bulgularının yada patoloji sonuçlarının mevcut olması gerektiğini vurgulamaktadır (2). Olgumuzun 5 yıl içinde tekrarlanarak gelişen, subareolar yerleşimli, klinik ve patolojik değerlendirmede (incelemenin yapıldığı döneme göre değişmek üzere) akut/kronik inflamasyona işaret eden bulguları mevcut idi. Olgumuzda meme başı akıntısı mevcut değil idi. Ancak areola düzeyinde ciltten pürülan akıntı olduğu görülmekte idi. Meme başı çekintisi şikayetinin kronik periduktal inflamasyon ile

uyumlu olduğunu düşündürmektedir.

Lannin, olgularının yaklaşık yarısında aspirasyon ve antibiyotik tedavisi ile iyileşme sağladığını, kalan yarısında ise cerrahi tedavi gerektiğini bildirmektedir (2). Sean ve ark'ları akut olguların antibiyotik veya insizyon ve drenaj tedavisinden yarar görebileceklerini ancak kesin tedavinin uygun cerrahi eksizyon ile sağlanabileceğini bildirmektedirler (5). Radial eliptik insizyon ile tüm duktusu, fistül traktusu ve çevresindeki inflamatuvar dokunun eksize edilmesinin en iyi cerrahi yöntem olduğunu ve bu metodun nüks oranlarını azalttığını vurgulamaktadır (2, 5). Olgumuzda tekrarlayan cerrahi girişimlere rağmen nükslerin oluşması uygun cerrahi yöntemin uygulanmadığını düşündürmektedir. Bu nedenle subareolar alanda gelişen kitlelerin US incelemesinde komplike vasıfta kistik lezyonların görülmesi akut yada kronik inflamasyon bulguları varlığında Zuska Hastalığı'ndan şüphe ettirmelidir.

Sonuç olarak tekrarlayan subareolar abse ve laktiferöz fistül tablosunda tanıya gidebilmek yeterli klinik bilgiye sahip olunmalıdır. Radyolojik değerlendirmede subareolar yerleşimli akut ve kronik inflamatuvar süreçlerde bu hastalık akıldan tutulmalıdır. Subareolar yerleşimli komplike vasıfta kistik lezyonlarda ve areola düzeyinde gelişen cilt fistüllerinde, radyolojik ayırıcı tanı bu hastalığı belirtmesi hastanın doğru tanı ve uygun tedavi almasını sağlayacaktır.

Kaynaklar

- 1.Zuska JJ, Crile G JR, Ayres WW. Fistulas of lactiferous ducts. Am J Surg. 1951 Mar;81(3):312-7.
- 2.Lannin DR. Twenty-two year experience with recurring subareolar abscess and lactiferous duct fistula treated by a single breast surgeon. Am J Surg. 2004 Oct;188(4):407-10.
- 3.Patey DH, Thackray AC. Pathology and treatment of mammary-duct fistula. Lancet. 1958 Oct 25;2(7052):871-3.
- 4.Habif DV, Perzin KH, Lipton R, Lattes R. Am J Surg. 1970 May;119(5):523-6. Subareolar abscess associated with squamous metaplasia of lactiferous ducts.
- 5.Li S, Grant CS, Degnim A, Donohue J. Surgical management of recurrent subareolar breast abscesses: Mayo Clinic experience. Am J Surg. 2006 Oct;192(4):528-9.

Sorumlu Yazar: Dr. Emine ÖZTÜRK

Ankara Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Radyoloji Kliniği, Ankara/TÜRKİYE

Tel: 0(312)596 20 00

E-mail: ozturkemn@yahoo.com

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, yapıştirilmeli 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, basım yeri, basım yılı. Örnek: Murray PR, Rosenthal KS and Pfaller MA. Medical Microbiology. 5th Edition. London. The Mosby Company, Wolfe Publications Ltd. 2005.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

21.Metinler yazıcı ile A4 kağıda, kağıdın sadece bir yüzüne ve çift aralıklı olarak yazılmalıdır. Üç nüsha olarak Flash disk veya CD ye kaydedilmeli aşağıdaki adrese veya e-mail: bilgi@ortadoguyayincilik.com.tr 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 77

www.ortadoguyayincilik.com.tr

e-posta: bilgi@dntortadoguyayincilik.com.tr

İletişim: Aslı ÇALIŞKAN

Tel: (0312) 418 40 77

e-posta: aslicaliskan_06@hotmail.com

TURKISH JOURNAL of CLINICAL LABORATORY INSTRUCTIONS TO THE AUTHORS



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

19. The Editor's approval is required before submitting a review article since reviews to be published are planned by the Editor.
20. The reviews shall include; Title, unstructured abstract and key words and the main text section. Abstract must have maximum 250 words. The number of references shall not exceed 60.
21. Case reports shall include; Title, abstract and key words. Introduction, Case, Discussion and References. Case reports should have a short introduction and discussion sections, and an unstructured abstract should be prepared as one paragraph. The number of references must to be maximum 15.
22. Independent reports representing a remarkable contribution in the related field may be submitted as a short communication. The maximum length of a short communication is 1500 words. They shall include a title, an unstructured paragraph of abstract and 2-6 key words. The main text shall include a maximum of two figures and/or two tables. The number of references must to be maximum 15.
23. The letters to the Editor may be submitted for addressing issues or exchanging views on topics arising from published articles or uncommitted subjects without original research interest. It shall be maximum 1000 words and including an abstract. The number of references must to be maximum 10.
24. Figures and tables shall be numbered according to the sequence of referral within the text. Each item shall be cited in the text.
25. Each table shall be prepared with double spacing on an one side of separate page. Tables shall have a brief title. Authors shall place explanatory matter in footnotes not in the heading. Explanations shall be made for all nonstandard abbreviations in footnotes. The following symbols may use for abbreviations, *, **, †, ‡, §, ††, ‡‡. Each table shall be cited in text.
26. Figures shall be either photographed or professionally drawn, and these items shall be submitted via e-mail as high-quality digital images. If the manuscript has been sent via email as electronic file, figures shall be sent in a format that will produce high-quality image (for example, JPEG, iff, epd, pdf or GIF, not bitmap). Before submitting figures, authors shall control the images on a computer screen in order to ensure image-quality.
27. X-ray films, pictures, photographs and other diagnostic images should be high-quality. Letters, numbers, and symbols on figures must be clear and consistent throughout, and large enough to remain legible when the figure is reduced for publication.
28. **References** ;References shall be numbered consecutively in the order in where they are mentioned in the text. Identify references in the text, tables and legends at the end of the sentences in brackets. List all authors up to six authors. For more than six authors, list the first six authors followed by "et al". Journal names should be abbreviated as listed in "Index Medicus" or in "ULAKBIM/Turkish Medical Index".
- Journal articles**;The names of the first six authors, title of the article, abbreviated title of the journal, the year of publication, numbers of the volume and relevant page numbers of the article. Saubolla MA, Keihn, TE, White MH, Rudinsky MF and 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 ORTADOĞU 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@ortadoguyayincilik.com.tr) 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.




ankalah
Laboratuvarları

Işınlar Mah. Eşref Bitlis Cad. Bergama Sok. No: 10 / A Yenimahalle - ANKARA
Tel: 0 (312)327 30 30 & Faks: 0 (312) 327 54 06
www.ankalab.com.tr