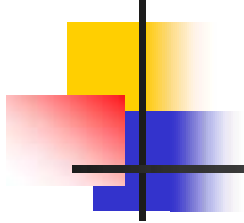


Postmortem ve Adli Olgularda Mikrobiyolojik Yaklaşım

Dr. Melek DEMİR

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji AD.-DENİZLİ





çerik

- Adli mikrobiyoloji
- Postmortem mikrobiyal adli kanıtların toplanması, de erlendirilmesi ve önemi
- Cinsel saldırılar ve Adli mikrobiyoloji
- Adli mikrobiyolojik incelemelerde tanısal yöntemler
- Biyoterörizm, biyolojik suç,biyogüvenlik
- Laboratuvar sorumlulukları
- Uluslararası ve ulusal düzenlemeler

Adli mikrobiyoloji

Biyoterörizm

Biyolojik suçlar

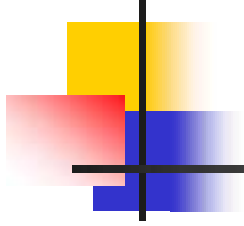
Mikroorganizma veya toksinlerinin kasıtlı veya istem dışı yayılması (besin zehirlenmeleri, salgınlar)

Ku kulu
Ölümler
Cinsel saldırılar



Postmortem Mikrobiyoloji

- Adli üphesi olan ölüm olgularında
- Ani bebek ölümü sendromunda (SIDS,SUDI)
- Toplu/ku kulu besin zehirlenmeleri
- Hastanede yatı sırasında olu an ölümlerde
 - Nozokomiyal mikroorganizmaların ara tırılması
- Antemortem tanının do rulanması
- Tedavinin de erlendirilmesi
- Ara tırma
- Organ transplantasyonu sürecinde



Örneklerin toplanması
ve korunması

Ekstraksiyon

Postmortem mikrobiyoloji

Analiz

Sonuçların
de erlendirilmesi



Postmortem de erlendirme

Olgu hastane dı nda ise

- Alı kanlıklar (IV ilaç ba ımlılı ı, alkol gibi)
- ya , immobilize olup olmadı ı
- bakımsız bir ki i olup olmadı ı
- erkek homoseksüel olup olmadı ı, tutuklu olup olmadı ı

Olgu hastanede ise

- Ölümden önce öyküsü ve kısa tanı bulguları,
- Önceki operasyonları
- nvazif iyatrojenik girişimleri sorgulanmalıdır



Postmortem Mikrobiyoloji

- Ba ı ıklı ı baskılanmı bir olgu söz konusu ise
- Standart bakteriyolojik kültürler yanında
 - Mikobakteri, Legionella, Mikoplazma
 - Fungal, viral ve paraziter etkenler için de örnek alınmalı

Postmortem bakteriyolojik incelemeler

Postmortem kültür için genel kurallar

- Boşluklar sıvı varlığı yönünden incelenmeli
- Örnek alınacak bölgeler dekontamine edilmeli
 - Sıcak metal spatula
 - Dezenfektan?
- Örnekler barsak ve solid organlara incelenmelerden önce alınmalı
- Doku kültürleri için 1cm³ lük parçalar
- Aerobik ve anerobik kan kültürü için kalp kanı ve dalak örneği alınmalı

Postmortem bakteriyolojik incelemeler



- drar örne i mesaneden direkt aspirasyonla
- BOS LP, lateral ventrükül veya sisternadan
- Abse ve granülomlardan örnek lezyonun periferinden ve ortasından alınmalı
- Her bir kültür alımı için farklı steril otopsi setleri kullanılmalıdır

Postmortem bakteriyolojik incelemeler

Örnek toplama zamanı

- Postmortem ilk 15 - 48 saat
 - yalancı pozitiflik oranında azalma
- Mümkün oldu unca ilk 24 saat içinde örnekler alınmalı
- Saklanma ko ulları önemli
- SUDI olgularında bedenin örnek alım zamanına kadar uygun ko ullarda saklanması durumunda
- postmortem translokasyon oranında artı görülmedi i

Weber MA., et al , Forensic Science International 2010; 198 : 121-125

Tsokos M, Leg Med 2001;3:15-22

Roberts FJ, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1998; 17:821-827

Caplan MJ, Koontz FP , Cumitech35- 2001-ASM

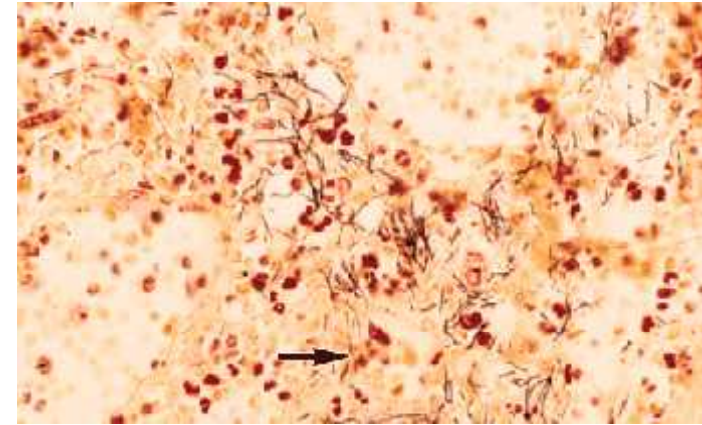


Postmortem bakteriyolojik incelemeler

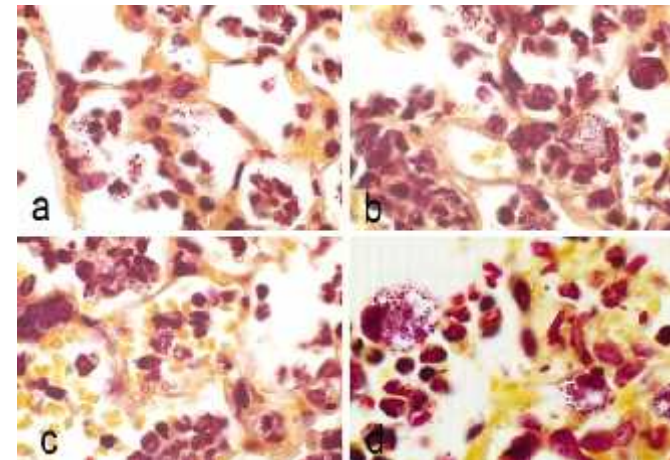
Boyalı ncelemeler

Gram boyama

- Homojenize doku örnekleri, sürüntü veya vücut sıvıları
- Parafinize doku kesiti örneklerinde Gram boyamanın farklı modifikasyonları
 - **Brown-Brenn** (gram pozitifler için daha iyi)
 - **Brown-Hopps** (gram negatifler için daha iyi)
 - MacCallum-Goodpasture



Brown -Brenn



Brown -Hopps

Postmortem Mikrobiyoloji

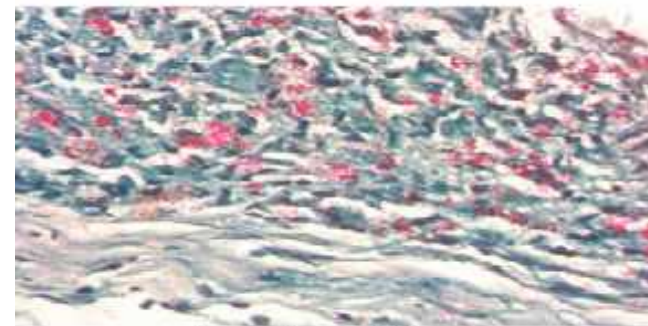
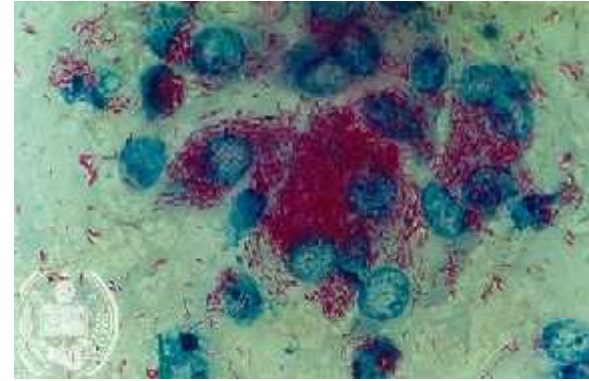
Boyalı İncelemeler

■ Asido Rezistan Boyamalar Parafinize doku örneklerinde

- Ziehl-Neelsen
- Coates-Fite
- Fite-Feraco (özellikle lepra için)
- Truant's auramine rhodamine

■ Diğer Boyalı İncelemeler

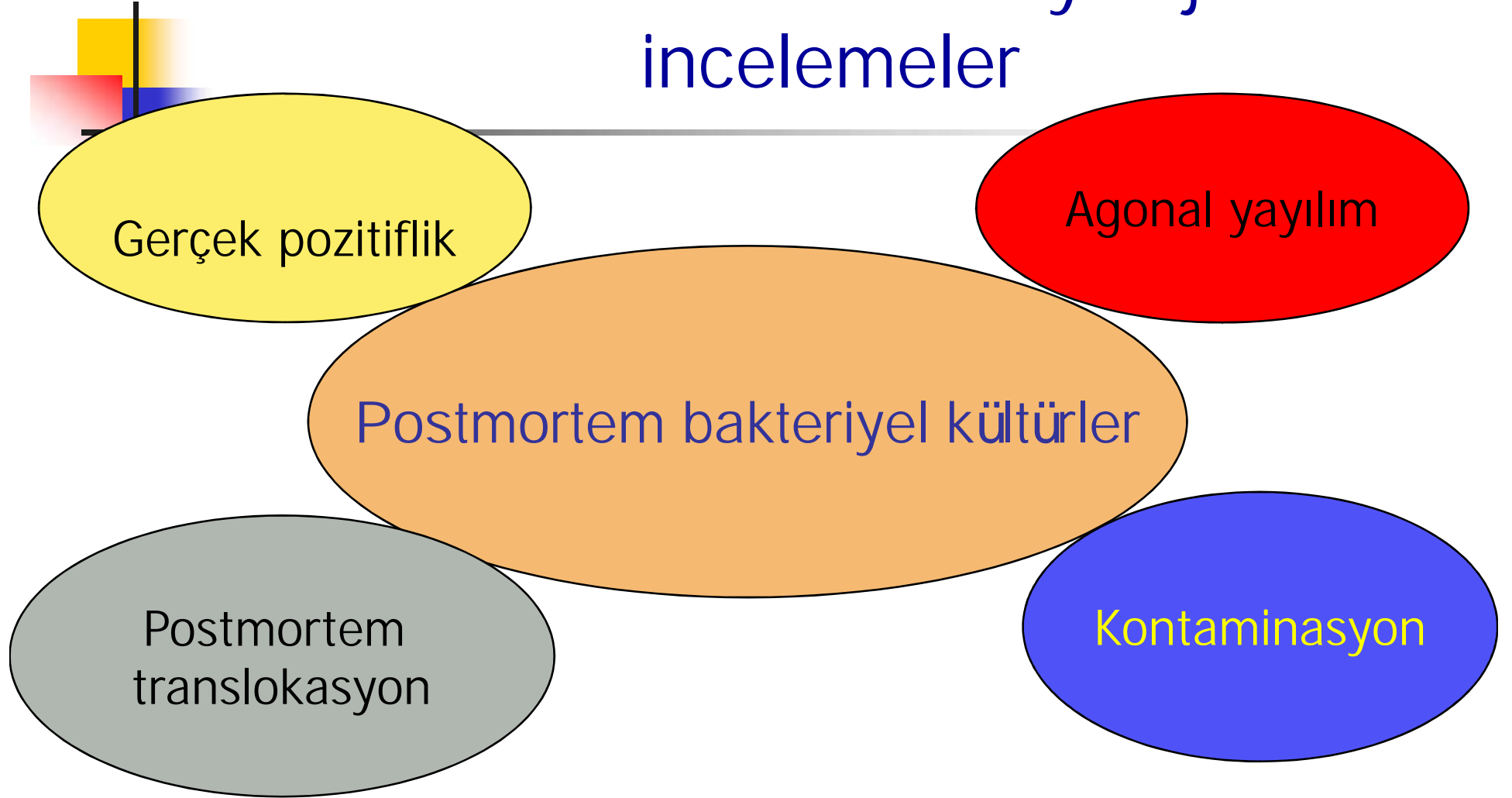
- Giemsa, Warthin-Starry, Steiner



Human lymphoid tissue

Fite Boyama

Postmortem bakteriyolojik incelemeler



Tsokos M, Pùschel K . Leg Med 2001;3:15–22

Roberts FJ, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1998; 17:821–827

Morris JA, Harrison LM, Partridge SM Curr Diagn Pathol 2007; 13:65–74

Postmortem bakteriyolojik incelemeler

Kan ve Dalak Kültürü

- İlk 24 saat içinde kültür alınması
- 0.ve 18. saatlerde alınması durumunda
- Pozitif kan kültür sonucunun %20 den %40'a çıktı

Morris JA, Harrison LM, Partridge SM. J Clin Pathol 2006;59:1-9.
Saegeman V, et al. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2009; 28: 161-168



Morris JA, Harrison LM, Partridge SM. J Clin Pathol 2006;59:1-9.

Postmortem bakteriyolojik incelemeler

Kan ve Dalak Kültürü

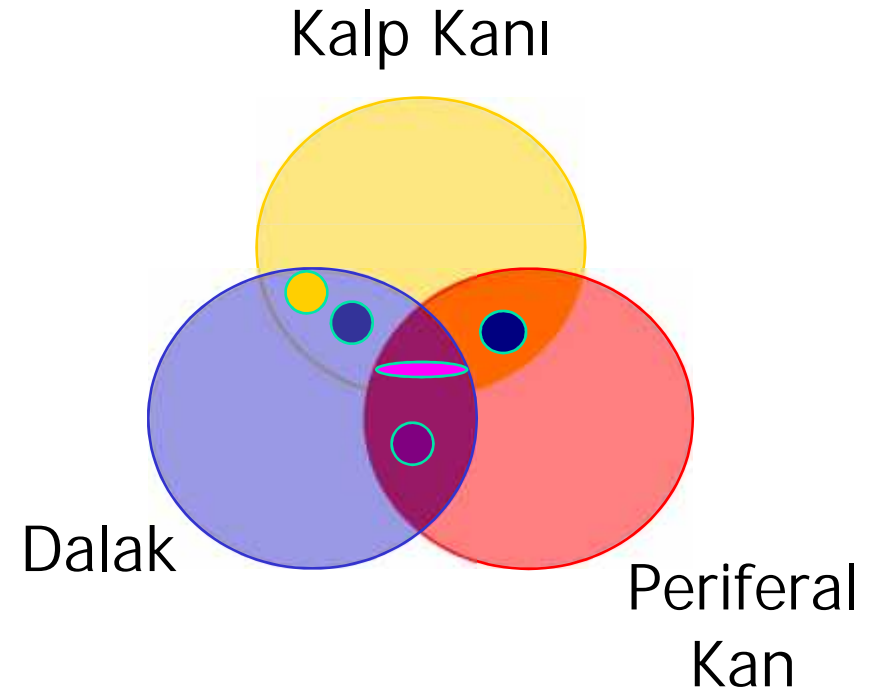
SUDI olgularında örnekler

- Acil serviste ölüm olur olmaz
- Postmortem otopsi sırasında
 - Kan kültüründe üreme sonuçlarının anlamlı olarak farklı olduğu gösterilmiştir

Postmortem bakteriyolojik incelemeler

Kan ve Dalak Kültürü

- Farklı bölgelerden alınmış olan kan örnekleri
- Dalak örnekleri
 - aynı patojen mikroorganizmanın üremesi durumunda sonuç anlamlıdır



Postmortem bakteriyolojik incelemeler

Kan ve Dalak Kültürü

Gerçek pozitiflik

- N. Meningitidis
- H. influenzae
- S. pneumoniae
- C. albicans
- Salmonella türleri
- S. aureus
- E. Coli ve diğer Enterobacteriaceae
- Corynebacterium türleri, Bacillus türleri ve Propionibacterium acnes nadiren gerçek pozitiflik nedeni olabilir

Postmortem bakteriyolojik incelemeler

BOS

Normal BOS'da
3- 4 MNL normal,
PMNL görülmez

- PM 2-28 saat arasında BOS'da hücre artışı
- bu hücrelerinde MNL olduğu gösterilmiştir
- PMNL görülmemesi

Platt MS, et al. Am J forensic Pathol 1989; 10:209-12.

- Eğer ölümden önce bir enfeksiyon ya da bariyeri bozan başka bir patoloji yoksa ölümden sonra kan beyin bariyeri en azından büyük protein moleküllere karşı bariyeri sağlam olarak korunmuştur.

Morris JA, et al Curr Diagn Pathol 2007; 13:65-74 .

Postmortem bakteriyolojik incelemeler

BOS

Örnek alım zamanı:
Postmortem
en erken zaman
aralığında

Lomber
punksiyon, lateral
ventrikül veya
sisternal
punksiyon



- 1- Postmortem BOS'a agonal yayılım nadirdir
- 2-Ölümden sonra BOS'da mononükleer hücreler bulunur ancak menenjit veya kanama yoksa nötrofil bulunmaz
- 3-BOS protein düzeyleri ölümden sonraki ilk 24 saatte değerlendirilmeli
- 4-BOS'da nötrofil sayımı meninkslerin histolojik incelemesinden daha duyarlı bir indikatördür

Postmortem bakteriyolojik incelemeler

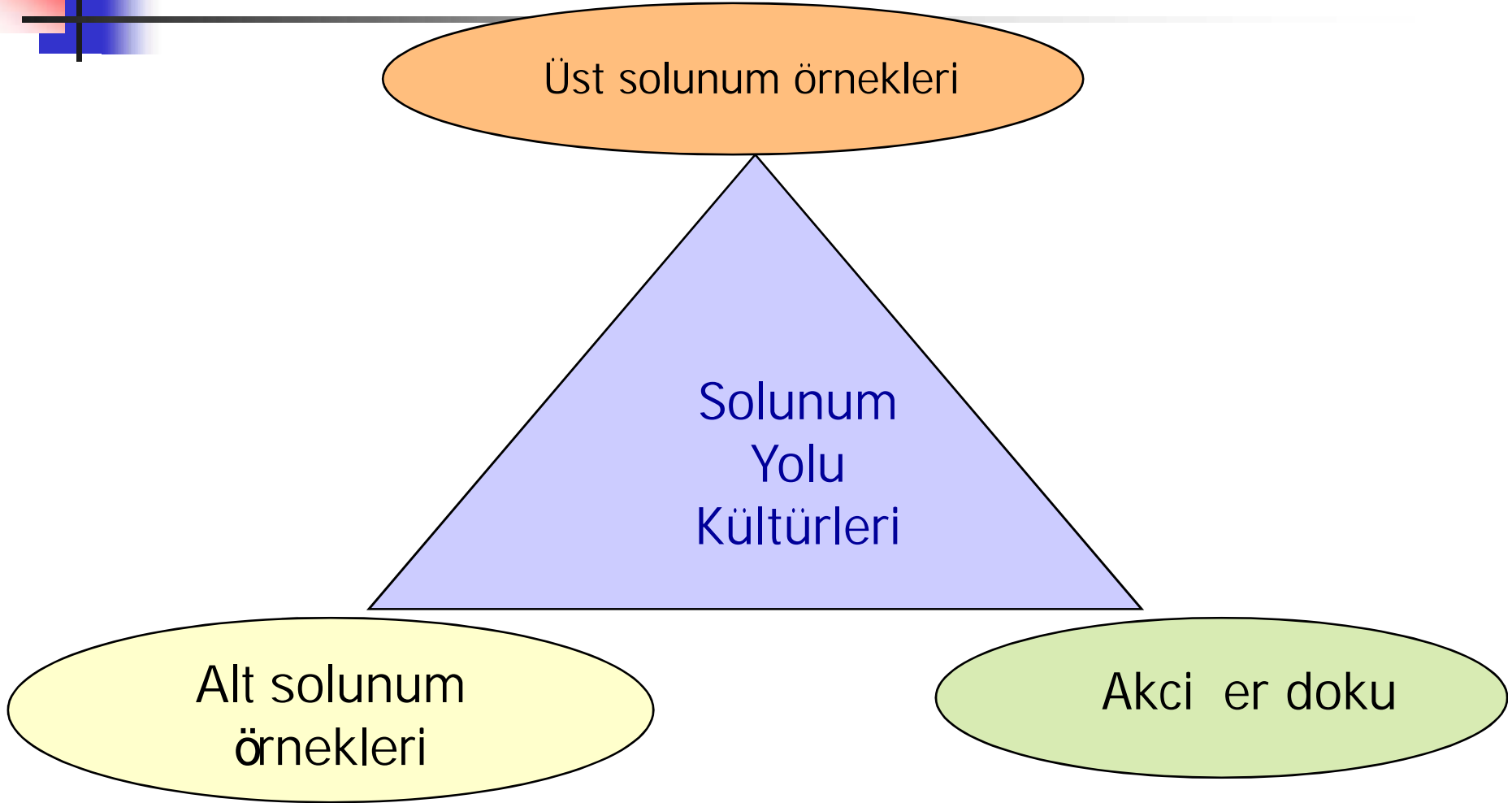
BOS

Postmortem BOS incelemesi için yanıt bekleyen sorular

- 1- Farklı ya gruplarında BOS incelemesi için postmortem interval ne olmalıdır? BOS protein düzeyi ne zaman değerlendirilmeli?
- 2-Postmortem BOS'da MNL varlığı enfeksiyonu yansıtır mı? Kandan mı yoksa menikslerde yerleşen hücreler mi? CD markerları ?
- 3- SUDI olgularında BOS'un kimyasal kompozisyonu? sitokinler? Proteomik , genomik çalışmalar?

Postmortem bakteriyolojik incelemeler

Solunum sistemi



Postmortem bakteriyolojik incelemeler

Solunum sistemi

- Nazofaringeal S.aureus ta ıyıcılı ı ya amın ilk 3 ayında %50
- 3-12 ay arasında %30 civarında

Morris JA, Harrison LM, Partridge SM. Curr Diagn Pathol 2007; 13:65-74 .

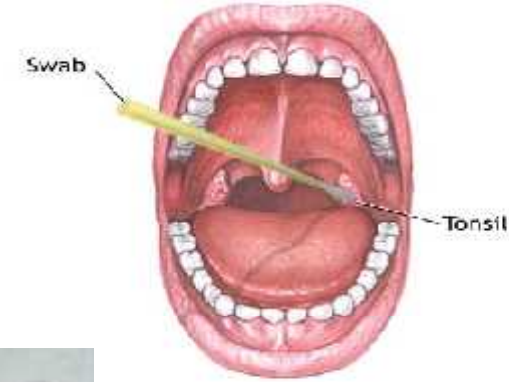
Ani bebek ölümü sendromu etyolojisinde S.aureus ta ıyıcılı ı suçlanmaktadır

Postmortem bakteriyolojik incelemeler

Solunum sistemi

Üst solunum yolu örneği

- Burun
- Nazofarenks
- Boğazdan eküvyon ile sürüntü örneği





Postmortem bakteriyolojik incelemeler

Solunum sistemi

Alt solunum yolu örnek alımı

- Disseksiyondan sonra trakea ve bron lardan eküyonla
- alternatif olarak trakeal aspirat

Postmortem bakteriyolojik incelemeler

Solunum sistemi

Akciğer örnekleri

- Ağızda yerleşmiş olan mikroorganizmaların ölümden sonra akciğerde saptandığı gösterilmiştir

Herhangi bir pnömoni bulgusu olmaksızın ağız sekresyonlarının drenajına bağlı akciğerlerde pozitif kültür sonucu elde edilebilir

Postmortem bakteriyolojik incelemeler

G S örnekleri

- G S'de inflamatuvar veya enfeksiyöz bir patoloji
 - Ölüm öncesi öyküde
 - Otopsi sırasında
- Besin zehirlenmelerinde toksin aranması
- SUDI olgularında
- C.perfringes patogeneizde suçlanmakta

Postmortem bakteriyolojik incelemeler

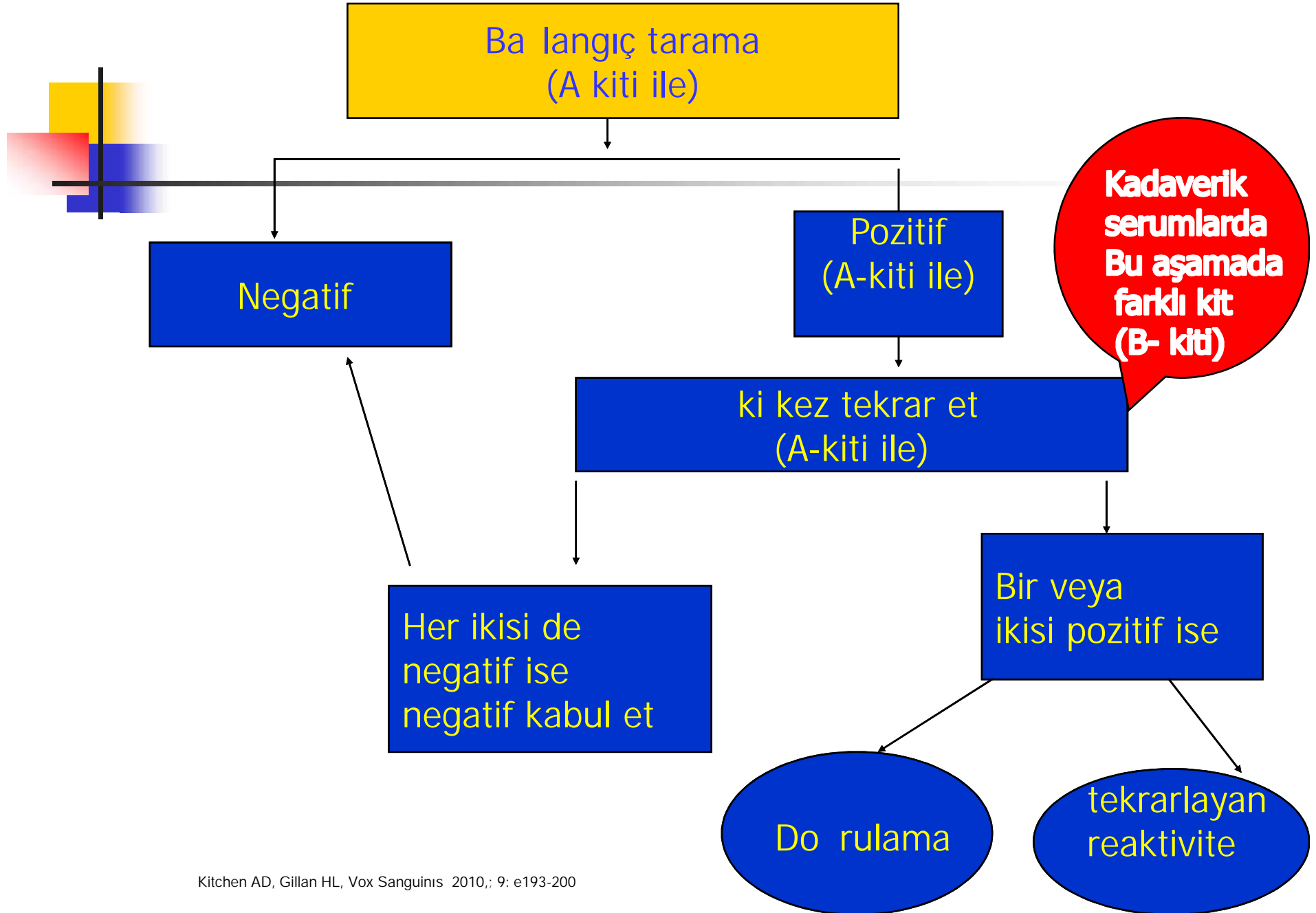
Yorumlama

- 1- Üreyen mikroorganizma kontaminat mı?
- 2- Kan ve Dalak kültüründe üreyen mikroorganizma aynı mı?
- 3- Ba ka bir sistem örne inde aynı mikroorganizma üremi mi?
- 4- Klinik bulgular sepsisi dü ündürüyor mu?
- 5- Doku kesitlerinde mikroorganizma görüldü mü?
- 6- Doku homojenatlarının gram boyamasında mikroorganizma görüldü mü?
- 7- Olası enfeksiyonla uyumlu bir doku konak yanıtı var mı?
- 8- Otopsi bulguları ölüm öncesi klinik bulgular ile uyumlu mu?

Postmortem serolojik-virolojik incelemeler ve değerlendirme

- Viral seroloji
- Viral etkenler için kültür
- Serolojik incelemeler için postmortem 24 saat içinde örnek alınması
- Kitler postmortem örnekler için valide edilmemi tir.
- uygun tarama algoritmaları

Serolojik inceleme için algoritma



Postmortem serolojik incelemeler ve de erlendirme

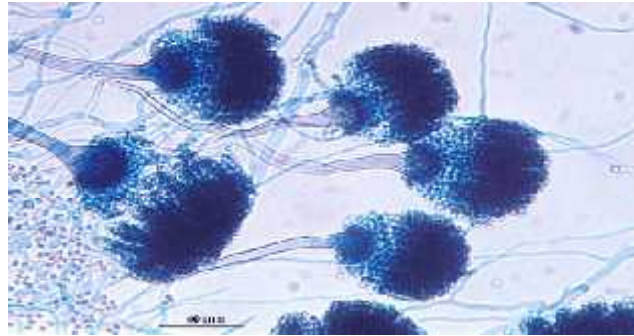
Serolojik incelemelerin kısıtlılıkları

- Kan örneklerinin yeterli miktarda alınamaması
- Uygun kalitede olmaması(hemolizli)
- Uygun zaman aralı ında toplanamamı olması



Postmortem mikolojik incelemeler ve de erlendirme

- Ba ı ıklı ı baskılanmı olgularda



- Biyolojik silah (Fusarium T2 toksini)



Cinsel saldırılar ve Adli Mikrobiyoloji



- Ma dura CYBH yönünden profilaksi ve incelemeler yapılmalı
 - Uretra, vajina ve serviks
 - Anal kanal, Farinks
 - Genital ülserlerden mikrobiyolojik örnekler alınmalı
 - Bazal serolojik incelemeler (HIV, HBV, HCV)

■ Çocuk istismarında

- HPV
- Herpes

■ Sanıktan

- Özellikle N.gonorrhoeae için uretral meatustan smear alınmalı
- HIV, HBV, HCV, sifiliz yönünden serolojik incelemeler

A national protocol for sexual assault medical forensic examination. Adult/Adolescents

(<https://www.ncjir.gov/pdffiles1/ovw/206554.pdf> web adresinden 01.11.2011 tarihinde ula ıldı) .

Chernesky MA, Hewitt C, Can J Infect Dis Med Microbiol 2005;16:63-64

Birinci basamak için Adli Tıp: Cinsel saldırılar (<http://.ttb.org.tr/eweb/adli/> web adresinden 01.11.2011Tarihinde ula ıldı)

Becthel K Current Opinion in Pediatrics 2010, 22:94–99,

- Ma dur HIV, HBV serokonversiyonu yönünden gerekli testler ile izlenmeli

Cinsel saldırılar ve Adli Mikrobiyoloji

- Laboratuvar kanıt zinciri formu

APPENDIX B Laboratory 'chain of evidence' form (LCOEF)

Please complete a separate LCOEF for each specimen

Staple LCOEF to request form

Date taken	Time taken	Doctor's name
Patient's details (name/number, date of birth, sex)		Doctor's signature

Specimen type Please circle/stram	Urethral	Cervical	Vaginal	Urine	Other (please state)
Test(s) requested Please circle/state	Microscopy	Bacterial culture	Chlamydia detection	Virus culture	Serology (please state type)

ALL NAMES MUST BE ACCOMPANIED BY A SIGNATURE

Procedure	Name	Signature	Date	Time
Specimen taken by				

National guidelines on a standardised proforma for 'chain of evidence' specimen collection and on retention and storage of specimens for medicolegal purposes- The Royal College of Pathologists-2006
(<http://www.rcpath.org/resources/pdf/ChainOfEvidence-June06.pdf> 9.11.2011 tarihinde ula ilmi tir

Adli mikrobiyolojik incelemelerde moleküler ve diğer tanısal yöntemler

- PCR/Real time PCR
- Parmak izi, dizi analizleri
- Moleküler tiplendirme
 - MLST, MLVNTR, AFLP, RFLP, SNP
- Microarray
- Proteomik çalışmaları
- Populasyon genetiği



Skowronskia E , LipkinWI, Molecular Microbial Surveillance and Discovery in Bioforensics, In: Schutzer S E, Budowle B, Breeze RG, Keim PS, Morse SA eds Microbial forensic. 2nd Edition. Elsevier-California 2011

Breeze RG, Budowle B, Schutzer SE, Adli mikrobiyoloji(An Ö , Çeviri Editörü) Nobel Tıp Kitabevi-2011



Adli mikrobiyolojik incelemelerde moleküler ve di er tanısal yöntemler

- Di er teknikler
 - SEM/ TEM (taramalı Eelektron mikroskopi)
 - AFM (atomik güç mikroskopi)
 - BAMS (Bioaerosol kütle spektroskopisi)
 - ToF-SIMS (ikinci iyon kütle spektrometrisi)
 - AMS(hızlandırılmı kütle spektrometri)
 - Raman spektroskopisi

Biyoterörizm, biyolojik suç ve mikrobiyolojik yaklaşım

- **Biyolojik sava / Biyoterörizm :**
- Politik, dini, ekolojik veya ideolojik nedenlerle
 - mikroorganizmaların veya biyolojik kaynaklı toksik maddelerin
- bir ülkenin
 - askeri kuvvetlerinde,, halkında,
 - faydalanılan hayvanlarında ve bitkilerinde
- hastalık olu turmak veya ölümlerine neden olmak amacıyla kullanılması

Biyoterörizm, biyolojik suç ve mikrobiyolojik yaklaşım

- B.anthraxis
- Smallpox
- C.botulinum
- Salmonella
- Shigella
- HIV



- 2001'de ABD'de karbon saldırısı
- Enjektörle kasıtlı olarak HIV bulaştırılması-Louisiana-Schmidt olgusu



Postmortem/adli mikrobiyolojik incelemeler ve biyogüvenlik

Otopsi çalı anları için

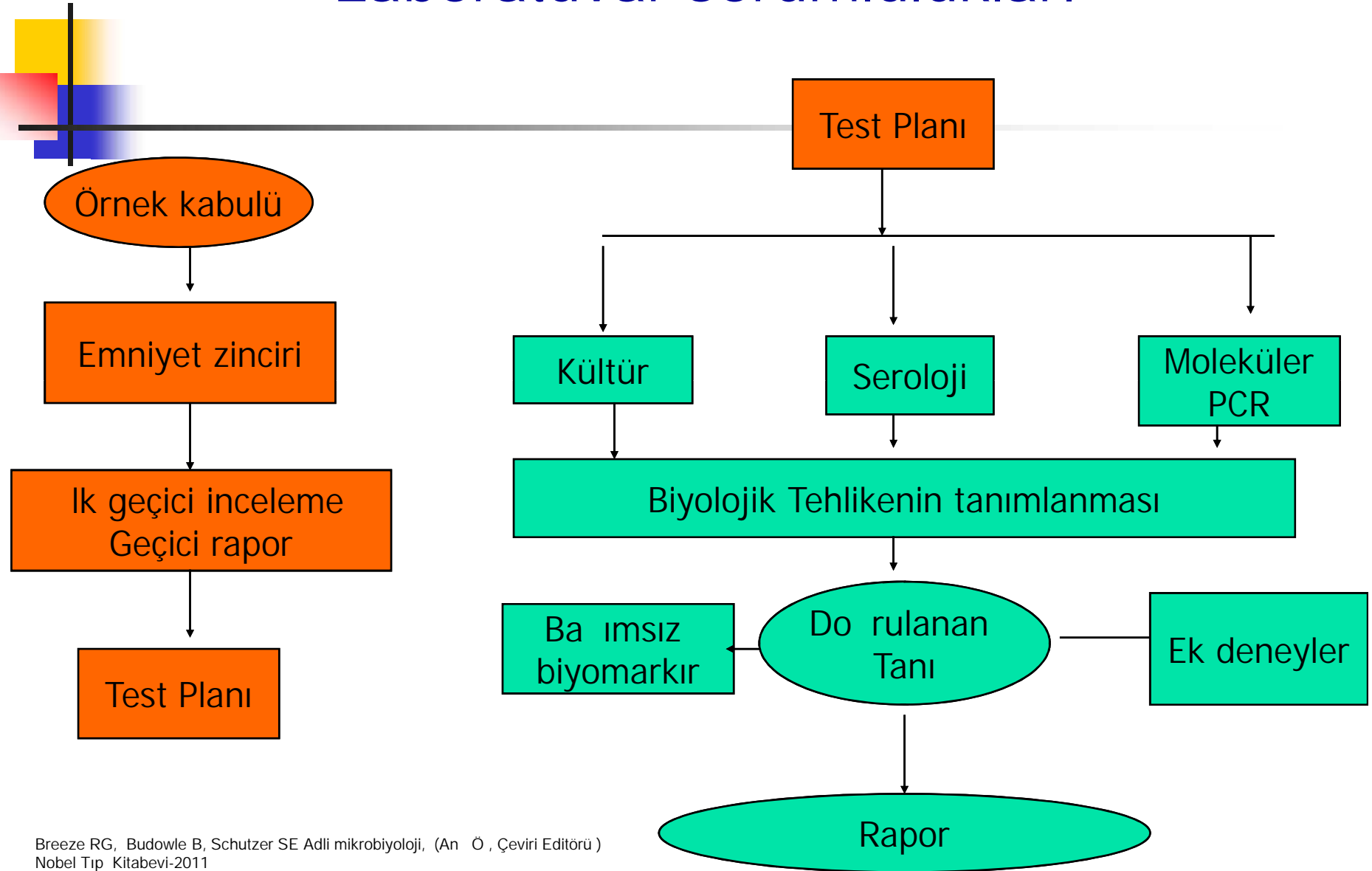
- A ılama
- Otopsi öncesi bazı tarama testlerinin yapılması
- Uygun koruyucu giysilerin giyilmesi

lemler için

- Aerosol olu turacak prosedürlerden kaçınılması
- Aletlerin sterilizasyonu
- Güvenli cerrahi giri imler



Postmortem/Adli Mikrobiyolojik ncelemelerde Laboratuvar sorumlulukları



Postmortem/Adli Mikrobiyolojik ncelemelerde Laboratuvar sorumlulukları

Kalite Güvencesi-Yönetimi

- Testlerin geçerlili i
- Yeterlilik testleri
- SOP
- QC

Kayıt sistemleri

- Tüm i lemlerin yazılı kayıtları tutulmalı
- Testi gerçekte tirenin prosedür notları
- Gerekti inde testler ile ilgili foto raflar

Raporda

- Örne in kayna ı,tanımı
- Alındı ı gün
- Sonuçlandırıldı ı gün
- Laboratuvarın tam adı
- Kullanılan yöntemler
- Öneriler, açıklamalar (ek test gibi)



Uluslararası ve Ulusal düzenlemeler

Biyolojik silahlara yönelik

- Dünya Tabipler Birliği (WMA)
 - Kimyasal ve Biyolojik Silahlar Bildirgesi

WMA Declaration on Chemical and Biological Weapons
<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/20archives/b2/> (29.09.2011 tarihinde web adresinden ulaşılmıştır)

WMA Declaration of Washington on Biological Weapons
<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b1/> (29.09.2011 tarihinde web adresinden ulaşılmıştır)

- Dünya Sağlık Örgütü (WHO)

ABD'de

- Biyosavunma Analiz ve Önlem Merkezi (NBACC)
- Mikrobiyal Genetik ve Adli Bilimler Bilimsel Çalışma Grubu (SWGMP)



Ulusal düzenlemeler

- Türkiye, biyolojik silahlara dair uluslararası sözleşmelerin tarafı
- TCK'da çeşitli maddeler

Postmortem mikrobiyoloji

- Adli Tıp Kurumu (ATK)
- Morg İhtisas Dairesi
 - Laboratuvarlar üyesi
 - Postmortem mikrobiyoloji

ATK –postmortem mikrobiyoloji laboratuvarı :

Kan, BOS, akciğerler, dalak örneklerinde kültür

Seroloji: HBV, HIV, Rota, C.difficile, Adenovirus (sözel görüşme)

Son söz

