

## MICROSPORUM CANIS KOLONİLERİNİN MORFOMETRİK DEĞERLENDİRMESİNDE ARAŞTIRICI UYUMU

INVESTIGATION OF THE INTER-OBSERVER AGREEMENT RATES FOR  
MORPHOMETRIC EVALUATION OF THE GROWTH OF  
MICROSPORUM CANIS COLONIES

Çağrı ERGİN\*, İlknur KALELİ\*, Beyza AKDAĞ\*\*, Mustafa ŞENGÜL\*  
Nural CEVAHİR\*, Melek DEMİR\*, Ergun METE\*, Rasim ŞAHİN\*

**ÖZET:** Dermatofit kolonilerinin in-vitro büyüme dinamiklerinin incelenmesinde stereoloji yeni kullanılmaya başlanan bir yöntemdir. Bu çalışma, dermatofitler için standartları belirlenmemiş morfometrik ölçüm testinde araştırmacıların vardıkları sonuçların kendi arasında uyumunu değerlendirmektedir. Bu amaçla *Microsporum canis* suşu beş farklı ekim yapılarak altı araştırmacı tarafından değerlendirilmiştir. Kullanılan ölçüm aracının kişiler arasında değerlendirmede farklı sonuçlar oluşturduğu anlaşılmıştır ( $R_1 = -5.3509$ ). Bu çalışmada; tekrarlayan ölçümlerin aynı araştırmacı tarafından yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar sözcükler:** *Microsporum canis*, morfometrik değerlendirme.

**ABSTRACT:** Morphometry is a newly applied method for investigation of the in-vitro growth dynamics of dermatophyte colonies. This study was undertaken to evaluate the correlation and agreement rates between the morphometric data obtained by different observers. For this purpose, five different *Microsporum canis* growth data were evaluated by six observers. The results of the study suggested that the agreement rates among the data obtained by different observers were low ( $R_1 = -5.3509$ ), while the results obtained by a single observer at different reading time points were consistent and correlated with the estimated growth rate. We thus recommend the evaluation of morphometric test results by a single observer for optimal standardization and consistency.

**Key words:** *Microsporum canis*, morphometric evaluation.

## GİRİŞ

Dermatofit türlerinin oluşturdukları koloniler, besiyeri, ısı ve zamana bağlı olarak birbirlerinden önemli farklılıklar göstermektedirler<sup>1</sup>. Dermatofit kolonisinin büyüme dinamiğinin stereoloji gibi morfometrik yöntemlerle incelenmesi yeni bir uygulamadır<sup>2</sup>. Henüz standardizasyonun yapılmadığı bu değerlendirme yönteminde,

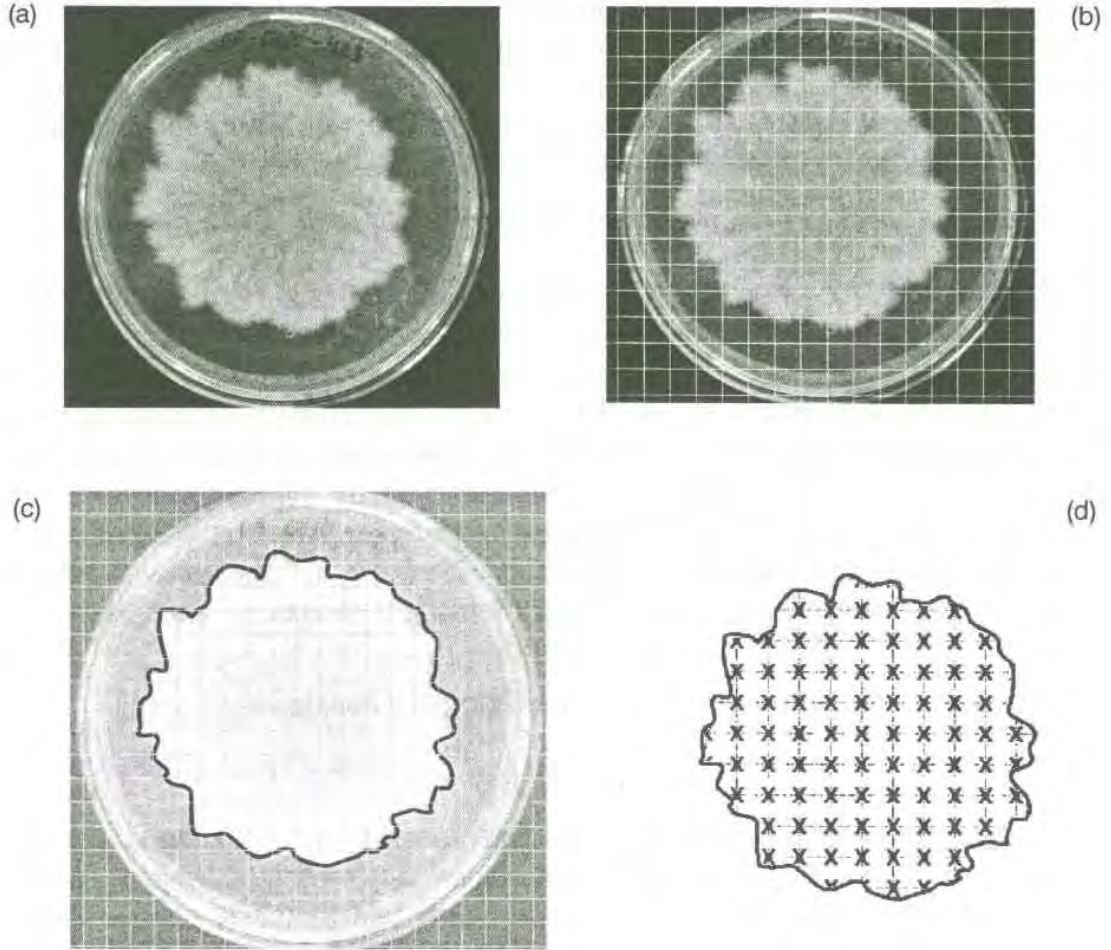
\* Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli.

\*\* Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Denizli.

sonucu önemli şekilde etkileyebilecek parametrelerden biri de ölçüm yönteminin araştırmacılar tarafından kullanılabilirliğidir. Sunulan çalışmada, laboratuvarımızda tanımlanmış bir *Microsporum canis* suşu kullanılarak bu yöntemin araştırmacılar arasındaki uyumu incelenmiştir.

### GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma mikrobiyoloji laboratuvarında sürekli olarak çalışan ve daha önce bu konuda hiç tecrübesi olmayan uzman ve uzmanlık öğrencisi araştırmacılar ile yapıldı. Çalışma öncesinde tüm araştırmacılar yöntem anlatıldı (Şekil 1). Araştırmacıların ardı ardına yaptıkları en az 2 ölçüm kayıtlara alınmayarak ölçüm yöntemi kontrol edildi. Ölçümler, araştırmacılar tarafından yapılarak sonuçlar diğer araştırmacılar gösterilmeden, her araştırmacının kendi çizelgesine kaydedildi. Çalışmaya katılan araştırmacıların mikrobiyoloji laboratuvarında tecrübeleri 2-18 yıl (ortanca: 8 yıl) arasındaydı.



**Şekil 1:** Morfometrik ölçüm yönteminin dermatofitler için uygulanması

1a: SDA besiyerinde *M.canis*'in ters yüzeyden görüntüsü.

1b: Besiyerine ters yüzeyden uygulanan 3 mm kenar uzunluğunda karelenmiş transparan cetvel.

1c: Dermatofit kolonisinin izafi sınırları.

1d: Dermatofit kolonisinin alanının hesaplanması: Sınırlar 81 "nokta ilişkili alan" içermektedir.

$$\text{Yüzey} = \text{"nokta ilişkili alan"} \times (\text{kare kenarı})^2$$

$$\text{Koloninin alanı} = 81 \times (0.3)^2 = 7.29 \text{ cm}^2$$



Araştırmacılar arasındaki uyumun araştırılması için, önceki çalışmalara tallik dermatofit büyümesinin en iyi gözleendiği, pH: 6.0'da hazırlanan patatesli havuçlu agar (PHA) besiyeri kullanıldı<sup>1,3</sup>. Değerlendirme ekimlerin 11-15. günleri arasında yapıldı<sup>1</sup>. Çalışmada bir tinea kapitis hastasından izole edilen ve standart yöntemler ile tanımlanan *M.canis* suşu kullanıldı. Çalışmaya alınan *M.canis* suşunun ilk alt kültürü %0.4 sikloheksimid içeren Sabouraud'un dekstrozlu agar (SDA) besiyerine yapılarak 15 gün oda ısısında üretildi. PHA besiyeri içeriği; 25 gr.l<sup>-1</sup> patates filtratı, 25 gr.l<sup>-1</sup> havuç filtratı, 15 gr.l<sup>-1</sup> agar olacak şekilde tek dökümde hazırlandı. *M.canis* kolonisinin tüylenen bölgelerinden iğne öze ile alınan bir miktar dermatofit, nokta ekim yöntemiyle besiyerinin ortasına ekildi. Test suşu 5 farklı petriye ekildi.

Etüvde 27°C sıcaklıkta inkübe edilen petriker, bağımsız araştırmacılar tarafından ekimlerinin takip edildiği 11.-15. günler arasında günün aynı zaman dilimi içerisinde (24xgün±0.5 saat) değerlendirildi. Besiyerleri arkadan eğik olarak gelen ışık yardımı ile incelendi. Sayım için 3 mm kenar uzunluğunda karelere bölünmüş kareli saydam kullanıldı. Kullanılan eşele göre her bir nokta 0.09 cm<sup>2</sup>'lik alana eşdeğerti<sup>2,4</sup> (Şekil 1).

Verilerin değerlendirilmesinde, SPSS 10.0 paket programı kullanıldı. Güvenilirlik analizi yapılarak, araştırmacılar arası farklılık ve içsel tutarlılığa bakıldı<sup>5</sup>. Güvenilirlik analizi sonucunda sınıf içi korelasyon katsayısı (R<sub>1</sub>) hesaplandı.

## B U L G U L A R

Elde edilen veriler Tablo I'de görülmektedir. Değerlendirme süresince tüm araştırmacılar günlük verileri elde etmekte zorluk ile karşılaşmamışlardır. Ancak koloni yüzeyinin büyümesi ile birlikte harcanan zaman ve işgücünü artırmıştır. Kullanılan ölçüm aracının kişiler arasında değerlendirmede farklı sonuçlar oluşturduğu anlaşılmıştır (R<sub>1</sub> = -5.3509).

Tablo I: Farklı Araştırmacılar Tarafından *M.canis* Kolonisinin Yüzey Alan Ölçümleri (cm<sup>2</sup>)

Gün	Gözlemci No.					
	1	2	3	4	5	6
11	13.806	13.590	14.256	13.374	15.372	15.030
12	16.884	15.408	17.838	16.146	18.360	18.882
13	20.754	19.422	21.618	20.448	21.384	22.212
14	25.020	23.256	24.858	25.398	26.370	26.748
15	29.250	26.568	30.384	29.376	29.664	30.456

## T A R T I Ş M A

Bağımsız araştırmacılar tarafından tekrarlanabilen yöntemler bilimsel amaçlı veri toplamanın önemli bir parametresidir. Veri toplama işleminde kullanılan değerlendirme yöntemi, kendi içinde ve farklı araştırmacılar ile aynı sonuçlara ulaşma bakımından tutarlı olmalıdır. Bu sonuçlar standardizasyon çalışmalarının da temel hedefleridir.

Morfometrinin bir alt birimi olan stereoloji çoğunlukla histoloji, embriyoloji, anatomi ve nöroloji bilim dallarında araştırma amaçlı kullanılan bir yöntemdir<sup>2,6</sup>. Morfometrik yöntemin dermatofit kolonilerinin büyüme dinamiklerinde kullanılabilirliği, Bahmer ve Lorenz'in<sup>2</sup> *Trichophyton rubrum* suşlarında test edilmiş bir değerlendirme yöntemi olarak besiyerlerinin birbirleri ile kıyaslanmasında kullanılmıştır.

Dermatofit koloni yüzeylerinin morfometrik ölçümü, öğrenilmesi kolay, pahalı olmayan ve özel bir laboratuvar aracı gerektirmeyen ancak zaman alan bir yöntemdir. Sunulan çalışmada aynı koloni yüzeyinin farklı araştırmacılar tarafından yapılan değerlendirmelerinde, istatistiksel olarak farklı olduğu belirlenen sonuçlara ulaşılmıştır. Her araştırmacının kendi içindeki devamlı verileri, dermatofitin beklenen büyüme gelişme grafiğine uygun olarak, logaritmik artan üreme dönemine korele olduğunu göstermiştir. Ancak kişiler arasında nokta sonuca ulaşmadaki farklılık, çalışmanın amacı olan yöntemin test edilmesi ve güvenilirliği konusunda olumsuzlukları göstermektedir.

Sonuç olarak, uygulanan ölçüm testinin grup içinde aynı sonuçlara ulaşımı zayıf bulunmuştur. Bu nedenle, bu yöntemin uygulandığı çalışmalarda değerlendirme işleminin tek bir kişi tarafından yapılmasının, standardizasyonun sağlanması açısından gerekli bir durum olduğunu düşünmekteyiz.

#### KAYNAKLAR

1. Ergin Ç, Oğuz EO, Kaleli İ, Sarı M, Kutlubay R: Farklı besiyerlerinde büyüme modeli oluşturulması amacı ile *Microsporum canis* kolonilerinin 1.kuşak stereoloji yöntemiyle değerlendirilmesi. 3. Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi, Bodrum, 2003. Tutanaklar, P19.
2. Bahmer FA, Lorenz E: Evaluation of the growth dynamics of *Trichophyton rubrum* cultures by morphometry and non-linear curve fitting analysis. *Mycoses* 2000, 43: 25-28.
3. Ergin Ç, Şengül M, Kaleli İ: Patatesli havuçlu agar besiyerinde *Microsporum canis* kolonisinin büyüme dinamiğine pH etkisi. 2. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Simpozyumu, Kayseri, 2004. Tutanaklar, S2-1.
4. Gundersen HJG, Jensen EB: The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc* 1987, 147: 229-263.
5. Raudenbush SW, Bryk AS: Hierarchical linear models: Applications and data analysis methods. 2002, 2<sup>nd</sup> ed. Sage Publications, Newbury Park, CA.
6. Adıgüzel E, Düzcan SE, Akdoğan I, Tufan AC: A simple low-cost method for two dimensional microscopic measuring and stepping on the microscopic plate. *Neuroanatomy* 2003, 2: 6-8.