

Ter Testi

Güzin Cinel

Ter testi kistik fibrozis (KF) hastalığına tanı koymak için uygulanan bir testtir. Kistik fibrozis vakalarının büyük kısmında tanı, terde klor konsantrasyonunun ölçümüyle konmaktadır. Terde sodyum miktarı da ölçülebilmektedir ama terdeki yüksek sodyum konsantrasyonu KF olan ile olmayan hastaları her zaman ayıramayabileceği için tanıda daha çok terde klor konsantrasyonu ölçümü kullanılmaktadır. Ancak şüpheli durumlarda terde her iki elektrolite de eşzamanlı olarak bakılmalıdır, çünkü terde klor/sodyum oranının 1'den büyük olması KF ile uyumludur (1). Klora duyarlı elektrodlarla direkt kondüktivite ölçümü ve "paper-patch" indikatör sistemleri gibi alternatif ter testi yöntemleri, yüksek oranda yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlar elde verdiklerinden, KF kesin tanısı için kullanılmaları önerilmemektedir (2-4).

Ter testi mutlaka standart yöntemlerle ve deneyimli personel tarafından, "National Committee for Clinical Laboratory Standards" kılavuzlarına uygun olarak yapılmalıdır (2).

Ter testi 3 aşamadan oluşur:

1. Terin stimülasyonu
2. Terin toplanması
3. Analiz

Sonuçları tanı koymak için kabul edilen tek işlem, kantitatif pilokarpin iyontofrez yöntemiyle yapılan ter testidir. Bu testte terin toplanması, Gibson Cooke yöntemiyle ya da *Macroduct* ter toplama yöntemiyle yapılmaktadır. Her iki yöntemde de ön kola 1.5-5 mV'luk elektrik akımı verilerek pilokarpin iyontofrez yöntemi ile ter stimüle edilir. Terin stimülasyonu baş, alın, gövde ve inflame, kanlı veya seröz drenaj olan bölgelerden yapılmamalıdır (1). Kabul edilebilen minimum hacim (*Wescor*

Macroduct Coil® sistemi için 15 µl) veya ağırlıkta (Gibson Cooke yöntemi için 75 mg) ter, ortalama terleme hızı 1 g/m²/dakika olması sağlanacak şekilde 30 dakikalık bir sürede toplanmalıdır (2).

Terin toplanması ve analizinde en sık uygulanan iki yöntem şunlardır:

Gibson Cooke yöntemi

Bu yöntem 1959'da Gibson ve Cooke tarafından tanımlanmıştır ve birtakım modifikasyonlar yapılarak günümüzde halen KF tanısında en güvenilir test olarak kullanılmaktadır (5). Bu yöntemde pilokarpin ile ıslatılmış ped ön kola yerleştirilir ve üzerine 3 mA'lık akım 5 dakika süreyle uygulanarak ter salgılanması stimüle edilir. Daha sonra bu alan üzerine 4 cm x 4 cm'lik, tartılmış bir ped yerleştirilerek üzeri parafilm ile kapatılır. Terin toplanması için 30 dakika beklendikten sonra ped tartılır. Bu yöntemde, analiz için en az 75 mg ter toplanması gerekmektedir. Toplanan terde titrasyon ile klor konsantrasyonu belirlenir. Terde klor miktarının 40 mEq/L'den düşük olması normaldir ve KF olma olasılığı çok düşüktür; terde 60 mEq/L'den yüksek klor konsantrasyonu KF tanısını desteklemekle birlikte sonuç hastanın yaşı ve klinik bulguları ile değerlendirilmelidir (1,6,7). 40 ile 60 mEq/L arasındaki bir ara değer KF tanısını düşündürür ama tanı koydurucu değildir (7). Kantitatif pilokarpin iyontoforez yöntemi (QPIT) ile KF tanısı konulması için KF fenotipi ile uyumlu bir veya daha fazla klinik bulguları veya KF'li kardeşi olan hastanın iki farklı zamandaki terde klor konsantrasyonu ölçümünün 60 mEq/L'den yüksek olması gereklidir (6).

Gibson Cooke yöntemini uygulamak eğitilmiş, deneyimli, teknik bilgisi iyi olan teknisyenler gerektirir, çünkü ter örneğinin toplanması ve analizi için birçok basamak içerir ve uygulaması kolay değildir. Bu işlemde, özellikle rutin olarak ter testi yapmayan laboratuvarlar söz konusu olduğunda volümetrik, gravimetrik, yoğunluk ve buharlaşma hatası riskleri vardır (8). Buharlaşmayı önlemek için toplayıcı pedin dikkatli yerleştirilmesi, kimyasal dengelerin kullanılması, geniş aralıkta değişen miktarlarda ter içeren seyreltik örneklerde hesaplamalar yapılması gerektiğinden, ter toplanması için yeni yöntemler geliştirilmiştir (9).

Macroduct/Nanoduct Coil Sistemi

Macroduct/Nanoduct coil sistemi günümüzde sık kullanılan ve uluslararası kabul gören bir yöntemdir (10). Bu yöntemde iyontoforetik stimülasyon için ön kol deiyonize suyla yıkanıp kurulandıktan sonra, pilokarpin içeren diskleri taşıyan iki elektrod ön kola yerleştirilir. Pilokarpin içeren diskler 2.8 cm çapında, %96 su içinde %0.5

pilokarpin nitrat içeren solid agar jelden oluşur. Bu elektrodla 5 dakika süreyle maksimum 1.5 mA'lık akım verilir. Ter toplama aşamasında deri temizlenip kurulanıldıktan sonra pozitif elektrodun olduğu bölgeye bir kolektör yerleştirilir. Macroduct kolektör tek kullanımlık, konkav bir plastik disk; ortasında 0.025 inç'lik bir deliği bulunan, iç çapı 0.64 mm, total kapasitesi yaklaşık 85 mikrolitre olan spiral bir plastik tüpüdür. Ter bu delikten ilerleyerek plastik tüp içinde birikir; böylelikle ölü boşluk veya buharlaşma riski ortadan kalkar. Konkav disk yüzeyinde, terdeki elektrolitlerle etkileşmeyen, plastik tüp içindeki terin görülmesini sağlayan 10 nmol, mavi, suda çözünen boya vardır. Ter toplama sırasında herhangi bir zamanda ne kadar ter toplandığı buradan görülebilir. Otuz dakikalık toplama boyunca ortalama 50-60 mikrolitre ter toplanabilir ki bu miktar aynı örnekte klor titrasyonu ve kondüktivite (iletkenlik) ölçümü için yeterlidir.

Terde Kondüktivite Ölçümü

Kondüktivite ölçümü, KF laboratuvar tanısı için basit ve ekonomik bir yöntemdir; ter örneğinin elektriksel iletkenliğini ölçer. 6-10 mikrolitre ter örneğinde iletkenlik ölçülebilir. Kondüktivite mmol/L olarak belirlenir ve bu birim, aynı sıcaklıktaki aynı ter örneği ile aynı iletkenliğe sahip sodyum klorür solüsyonunun molar konsantrasyonunu temsil eder (11).

Barben ve arkadaşlarının (10) yaptığı bir çalışmada, daha önceden KF olduğu bilinen 21 hasta ve değişik pulmoner semptomlar nedeniyle veya KF ekartasyonu için kliniğe başvuran 85 kişilik kontrol grubunda makroduct-toplama sistemiyle terde klor konsantrasyonu ve osmolalite ölçülmüştür. Her iki ölçüm için minimum 30 mikrolitre (yaklaşık 30 mg) ter gerekmiştir. Terde klor konsantrasyonu 60 mmol/L'nin ve osmolalitesi 200 mmol/kg'ın üzerinde olanlara KF tanısı konmuş, terde klor konsantrasyonu 40 mmol/L'nin ve osmolalitesi 170 mmol/kg'ın altında olanlar normal kabul edilmiştir. Aynı gün aynı hastada diğer koldan terde kondüktivite ölçümü de yapılmıştır. Ortalama kondüktivite değerleri sağlıklı bireylerde 36 ± 1.0 mmol/L; KF'li bireylerde 115 ± 2.8 mmol/L bulunmuştur. Her iki testin de yapıldığı 94 hastada yeni ter testi KF'li hastaların hepsini tanımlamış ve onların sağlıklı bireylerden ayrılmasını sağlamıştır. Bu testin duyarlılığı ve özgüllüğü %100 bulunmuştur. Yeni test ile daha az miktarda terle, daha kısa sürede ölçüm yapılabilmektedir. Test yapılanlar ve aileler sorgulandığında da, sonuç daha çabuk verildiğinden %97'si ölçüm için yeni testi tercih ettiklerini belirtmişlerdir. Bu testi geliştirenlerce önerilen *cut-off* değeri olarak 80 mmol/L kullanıldığında yanlış pozitif veya negatif sonuç bulunmamıştır ve bu, yeni ter testi sisteminin hızlı tarama testine ek olarak tanısız bir test olarak da kullanılabilmesini göstermiştir.

Hammond ve arkadaşlarıncı (9) yapılan bir başka çalışmada, 10 yıllık bir sürede 1090 hastada *macro-collection* sistemi ile kondüktivite ölçümü kantitatif iyontofo-

rez yöntemi ile karşılaştırılmış ve *macro-collection* sistemi ve Sweat-Check analyzer ile ölçülen kondüktivitenin KF'li olan ile olmayan hastaları tanısız olarak ayırt etmede terde klor konsantrasyonu kadar etkili olduğu gösterilmiştir.

Bu konudaki en geniş çalışma Lezana ve ark. (8) tarafından yapılmış ve 10 yıllık bir sürede 3834 hastada *Sweat-Check analyzer* kullanılmış ve KF'li hastalarda (n=294) medyan kondüktivite 111 mmol/L (82-148), sağlıklı bireylerde ise 36 mmol/L (12-89) bulunmuştur. KF tanısı için hesaplanmış en iyi *cut-off* değeri olarak ≥ 90 mmol/L belirlenmiştir (sensitivite %99.7; spesifite %100). KF tanısının dışlanması için en iyi *cut-off* değerin ise < 75 mmol/L olduğu anlaşılmıştır.

Hacettepe Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada KF'li 59 hasta, ter testi yüksekliği olan 10 hasta ve kontrol grubundaki KF olmayan 69 hastaya eşzamanlı olarak bir kollarından standart Gibson-Cooke tekniği ile terde Cl⁻ konsantrasyonu, diğer kollarından *Macroduct® coil sistemi* ile terde kondüktivite ölçümü uygulanmış, kondüktivite ölçümünün KF olan ile KF olmayan hastaları ayırt etmede başarılı olduğu gösterilmiştir (12). Kondüktivite ölçümü ile KF tanısını koymak için en iyi *cut-off* değer 90 mmol/L, KF tanısının dışlanması için en iyi *cut-off* değer ise 70 mmol/L olarak belirlenmiştir.

Ter testi sonuçları değerlendirilirken, bazen yanlış pozitif ya da yanlış negatif sonuçlar elde edilebileceği akıldan çıkarılmamalıdır. Terdeki elektrolit miktarı ter stimülasyonu için kullanılan yöntem, ter salgılanma hızına, hastanın tuz alımına, beslenme veya hidrasyon durumuna göre değişebilmektedir. Ayrıca uygun olmayan yöntemler, yetersiz ter toplanması ve teknik hatalar (derinin tuzlu materyalle kontamine olması, ter toplama öncesi hastanın cildinin kurulanmaması, ter toplama sırasında terin buharlaşması, toplanmış terin transportu, tartılması, dilüsyonu sırasında hatalar gibi) yanlış sonuçlara yol açabilmektedir (1).

Terde klor miktarının 60 mEq/L'den fazla olması KF tanısını düşündürmektedir; ancak sonuç hastanın yaşı ve klinik bulguları ile birlikte değerlendirilmelidir. Sağlıklı bebeklerde doğumdan sonra ilk 24-48 saatte terdeki elektrolit değerleri geçici olarak yükselebilir. Bu nedenle, ilk iki günden sonra ter testi mutlaka tekrar edilmelidir. Ayrıca ilk bir ayda bebeklerden, özellikle prematürelere ter toplanması zor olabilmektedir. Yine, bazı veriler üç aylıktan küçük bebeklerde 40 mEq/L'den yüksek değerlerin kuvvetle KF'yi düşündürdüğünü ileri sürmektedir. Terde klor konsantrasyonunun 160 mEq/L'nin üzerinde olması fizyolojik olarak mümkün değildir ve bu sonuç ter toplanması veya analizinde hata olduğunu gösterdiğinden test tekrarlanmalıdır (1).

İngiltere'de "The Specialist Advisory Group for Paediatric Investigations of the UK National External Quality Assurance Schemes (NEQAS)" tarafından kanıta dayalı bir kılavuz geliştirilmiştir (7). Bu kılavuz deneğin uygunluğunu, terin stimülasyonu ve toplanması için uygulanan yöntemleri, laboratuvar testlerinin kalite kontrolünü,

sonuçların değerlendirilmesini, test için gerekliliklerin belirlenmesini ve sağlık personelinin eğitimini kapsar. Bu kılavuzda yer alan bazı anahtar noktalar şunlardır:

- Testin neden ve nasıl yapılacağı anlatılması ve yazılı onam formu alınması önemlidir (Kanıt C).
- Ter testi 2 haftadan büyük, 3 kg'dan ağır, hidrasyonu normal ve belirgin sistemik hastalığı olmayan bebeklere uygulanabilir (Kanıt C). Term bebeklerde ilk 7 günde, özellikle ilk 48 saatte, terde sodyum ve klor yüksek olabilir (seviye III kanıt).
- Ödemli olan veya sistemik steroid alan hastalarda ter testi ertelenmelidir (Kanıt C).
- Güvenlik nedenleri ile açık sistemlerle oksijen alan hastalara ter testi uygulanmamalıdır (Kanıt C).
- Terin stimülasyonu, toplanması, saklanması ve analizi cihazın yazılı standart prosedürlerine uygun olarak yapılmalıdır (Kanıt B veya C). Tüm analitik işlemler kalite kontrolü ve eksternal kalite sigortası ile desteklenmelidir. Bu, testin güvenliğini ve performansını sağlayacaktır.
- Ter, 30 dakikadan daha uzun, 20 dakikadan daha kısa zamanda toplanmamalıdır (Kanıt B).
- Ter stimülasyonu ve toplanması için standart olmayan hibrid yöntemlere başvurulmamalıdır (Kanıt B).
- Yılda en az 50 test, kişi başına en az 10 toplama işlemi yapan merkezler ter analizi yapabilirler (Kanıt C).
- Ter toplanması tam olarak eğitilmiş personelce yapılmalıdır ve test koşulları için gerekli sorumluluk tam olarak anlaşılmalıdır (Kanıt C).
- Toplama süresi boyunca ortalama hız olarak ölçülen ter sekresyonu hızı 1 g/m²/dakikadan az olmamalıdır (m² ter toplanan alandan hesaplanır). Bu hızın altında toplandığında ter analiz edilmemelidir. Yetersiz toplanan ter biriktirilmemelidir (Kanıt B). Bu hız vakaların büyük çoğunluğunda sağlanabilir (seviye IV kanıt). UK laboratuvar verilerinde, bu hızın altındaki toplamlar analiz edildiğinde ara klor değerlerinde artış saptanmıştır (seviye III kanıt). Bu da terde yüksek elektrolit konsantrasyonu ile sonuçlanan suboptimal terlemenin oluştuğunu ya da buharlaşma veya sızıntı ile ter kaybı olduğunu düşündürür.
- Ter testi raporu toplanan ter ağırlığını/hacmini ve kabul edilebilir minimum değeri içermelidir (Kanıt C).
- En iyi ayırıcı ter klorudur ve her zaman analizlerde yer almalıdır (Kanıt B).
- 40 mmol/L'den düşük klor konsantrasyonu normaldir ve KF olasılığı düşüktür. 60 mmol/L'den yüksek bir sonuç tanıyı destekler. Ara değer KF tanısını düşündürür; ancak tanısal değildir (Kanıt B).
- Terde kondüktivite ölçümüne tanı için güvenilmeden önce ileri araştırma gereklidir. Karara bağlamak için terde klor konsantrasyonu da ölçülmelidir. 60

mmol/L'nin (NaCl ekivalanı) altındaki kondüktivite değerleri KF tanısından uzaklaştırır; 90 mmol/L'nin üzerindeki değerler KF tanısını destekler (Kanıt B).

- Terde sodyum, klor sonucu olmadan yorumlanmamalıdır. Ter potasyumu ve osmolalitesi ölçümleri tavsiye edilmez (Kanıt B).
- Gen mutasyon analizi, özellikle hafif veya atipik fenotipi olan, ter klor konsantrasyon değerleri arada kalan hastalarda yararlı bir tanısal test olabilir (Kanıt B).

KF'den başka terde klor konsantrasyonunu yükselten birçok durum vardır ve ter testini değerlendirirken bu durumlar da akılda tutulmalıdır (**Tablo 1**) (1). İdeal olarak

Tablo 1: Kistik fibrozis dışında terde elektrolit miktarını yükselten durumlar
Adrenal yetmezlik (tedavi edilmemiş)
Anoreksiya nervoza
Atopik dermatit
Otonomik disfonksiyon
Çölyak hastalığı
Ektodermal displazi
Egzersiz (özellikle sıcak havada)
Familiyal kolestaz (Byler hastalığı)
Fukosidoz
Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz eksikliği
Glikojen depo hastalığı tip 1
Hipogamaglobülinemi
Ailevi hipoparatiroidizm
Hipotiroidizm (tedavi edilmemiş)
Kleinfelter sendromu
Mauriac sendromu
Mukopolisakkaridozis tip 1
Malnütrasyon
Nefrojenik diabetes insipitus
Nefroz
Uzun süreli prostaglandin E1 infüzyonu
Protein kalori malnütrasyonu
Psödohipoaldosteronizm
Psikososyal büyüme geriliği

ter testi, hastalar klinik olarak stabilken, iyi hidrate olmuşken, akut bir hastalıkları yokken ve mineralokortikoid almazken uygulanmalıdır.¹

KF tanısında tek bir ter testi yüksekliği tanı koymada yeterli olmaz; bütün yüksek ter testleri mutlaka tekrar edilmelidir. Yine bütün sınırdaki ter testi sonuçları (40-60 mmol/L) tekrar edilmelidir. Ayrıca izlemlerinde KF ile uyumlu bulgular göstermeyen hastalarda da terde klor konsantrasyonu yeniden ölçülmelidir.

KAYNAKLAR

1. Doğru D. Kistik fibroziste tanı. *Katkı Pediatri Dergisi* 2002;23:209-17.
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Sweat testing: sample collection and quantitative analysis-approved guideline [Document C34-A]. Wayne (PA): The Committee; 1994.*
3. Denning CR, Huang NN, Cuasay LR, Shwachman H, Tocci P, Warwick WJ, Gibson LE. Cooperative study comparing three methods of performing sweat tests to diagnose cystic fibrosis. *Pediatrics* 1980;66:752-7.
4. LeGrys VA. *Sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis: practical considerations. J Pediatr.* 1996;129:892-7.
5. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics* 1959;23:545-9.
6. Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. *J Pediatr.* 1998;132:589-95.
7. Baumer JH. Evidence based guidelines for the performance of the sweat test for the investigation of cystic fibrosis in the UK. *Arch Dis Child.* 2003;88:1126-7.
8. Lezana JL, Vargas MH, Karam-Bechara J, Aldana RS, Furuya MEY. Sweat conductivity and choride titration for cystic fibrosis diagnosis in 3834 subjects. *J Cyst Fibros.* 2003;2: 1-7.
9. Hammond KB, Nelson L, Gibson LE. Clinical evaluation of the macroduct sweat collection system and conductivity analyzer in the diagnosis of cystic fibrosis. *J Pediatr.* 1994; 124:255-60.
10. Barben J, Ammann RA, Metlagel A, Schoeni MH. Conductivity determined by a new sweat analyzer compared with chloride concentrations for the diagnosis of cystic fibrosis. *J Pediatr.* 2005;146:183-8.
11. *Sweat Check Conductivity Analyzer product sheet by Wescor*
12. Cinel G, Doğru D, Yalçın E, Özçelik U, Gürçan N, Kiper N. Sweat conductivity test: can it replace chloride titration for cystic fibrosis diagnosis? *Turk J Pediatr.* 2012;54:576-82.