

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ADLI TIP ANABİLİM DALI

**AKUT ORGANOFOSFATLI PESTİSİT
ENTOKSİKASYONLARININ SIÇANLARDA DENEYSEL
OLARAK GÖSTERİLMESİ**

144 469

Kim. Yük. Müh. NEBİLE DAĞLIOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMANI
Doç. Dr. METE GÜLMEN**

ADANA – 2004

**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ADLI TIP ANABİLİM DALI**

**AKUT ORGANOFOSFATLI PESTİSİT
ENTOKSİKASYONLARININ SIÇANLARDA DENEYSEL
OLARAK GÖSTERİLMESİ**

Kim.Yük.Müh. NEBİLE DAĞLIOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

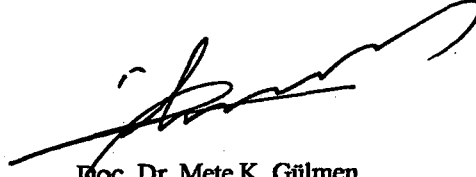
**DANIŞMANI
Doç. Dr. METE GÜLMEN**

**Bu tez Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından SBE 2002 YL
20 nolu proje olarak desteklenmiştir.**

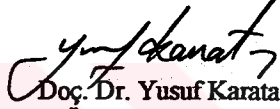
ADANA – 2004

Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Adli Toksikoloji Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan “Akut Organofosfatlı Pestisit Entoksikasyonlarının Sıçanlarda Deneysel Olarak Gösterilmesi” adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir

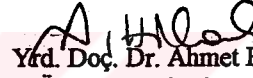
Tez Savunma Tarihi: 28/07/2004



Doç. Dr. Mete K. Gülmen
Ç.Ü. Tıp Fakültesi
Adli Tıp ABD Öğretim Üyesi
Jüri Başkanı



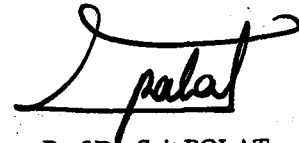
Doç. Dr. Yusuf Karataş
Ç.Ü. Tıp Fakültesi
Farmakoloji ABD Öğretim Üyesi
Üye



Yrd. Doç. Dr. Ahmet Hilal
Ç.Ü. Tıp Fakültesi
Adli Tıp ABD Öğretim Üyesi
Üye

Yukarıdaki tez, Yönetim Kurulunun 01.09.2004 tarih ve 22/24-9 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Tez No:



Prof. Dr. Sait POLAT
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Adli olayların aydınlatılması ve sağlıklı bir hukuk sistemi, objektif kriterlerin ortaya konmasına bağlıdır. Kriterlerin objektifliği ve güvenilirliği ise seçilen yöntemlerin teknolojik gelişimi sağlanabilir. Hukuka ve hukukun gelişimine katkıda bulunmak için varolan Adli Bilimler içindeki birçok alt bilim dalı grubu teknolojik gelişmeler göstermektedir. Adli Toksikoloji bu alt bilim dallarından birisi olup son yıllarda ciddi teknolojik gelişim göstermiştir.

Bu amaç doğrultusunda Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nde Adli Tıp Yüksek Lisans Programı açılarak, bu bilim dalına hizmet verebilecek eğitilmiş elemanların yetiştirilmesi hedeflenmektedir. Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerimi esirgemeyen danışmanım Ç. Ü. Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Mete K. Gülmen'e teşekkür ederim.

Eğitim ve tez dönemi içerisinde gösterdikleri sabır ve destekleri için tüm Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Behnan Alper'e ve Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Sayın Doç. Dr. Necmi Çekin ve Yrd. Doç. Dr. Ahmet Hilal'e ve Anabilim Dalımız çalışanlarına,

Bu tezin laboratuvar çalışması süresince yardımlarını gördüğüm eşim Vet. Dr. Kenan Dağlıoğlu'na ve çalışma arkadaşım Arş. Gör. Dilek Battal'a

SBE 2002 YL20 no'lu proje olarak bu çalışmanın gerçekleşmesindeki maddi katkıları nedeniyle Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

Kim. Yük. Müh. Nebile Dağlıoğlu

İÇİNDEKİLER

Kabul ve onay	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Organik fosforlu pestisitlerin üretimi ve kullanımı	3
2.1.1. Dünyadaki durum	3
2.1.2. Ülkemizdeki durum	4
2.2. Organik fosforlu pestisitlerin kimyasal yapı ve özellikleri	5
2.2.1. Diklorvosun yapısı	5
2.3. Organik fosforlu pestisitlere maruz kalma kaynakları	7
2.4. Organik fosforlu pestisitlerin kinetiği	8
2.4.1 Maruz kalma yolları	8
2.4.1.1. Oral	8
2.4.1.2. Solunum	8
2.4.1.3. Dermal	9
2.4.2. Dağılım	9
2.5. Biyolojik yarı ömür	9
2.6. Toksikite	10
2.6.1. Etki mekanizması	10
2.6.2. Toksikite değerleri ve insanda toksisiteyi etkileyen faktörler	12
2.7. Organik fosforlu pestisitlerle zehirlenmeler ve ülkemizdeki durum	12
2.8. Organik fosforlu pestisitlerle zehirlenme belirtileri	14
2.8.1.Klinik etkiler	14
2.8.1.1. Akut etkiler	14
2.8.1.2. Subakut etkiler	15
2.8.1.3. Kronik etkiler	15
2.8.2. Sistemik etkiler	16
2.8.2.1. Kardiyovasküler sistem	16
2.8.2.2. Solunum sistemi	16
2.8.2.3. Nörolojik sistem	16

2.8.2.4. İskelet ve düz kas	17
2.8.2.5. Gastrointestinal sistem	16
2.8.2.6. Hepatik etkiler	17
2.8.2.7. Üreme sistemi	17
2.8.2.8. Dermatolojik sistem	17
2.8.2.9. Göz, kulak, buruna olan etkiler	17
2.9. Karsinojenite	18
2.10. Prognoz ve ölüm sebebi	18
2.11. Toksikolojik analizler	18
2.11.1. Kan testleri	18
2.11.2. İdrar testleri	19
2.12. Tedavi	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	
3.1. Kan Örnekleri	23
3.2. Deneyleerde Kullanılan Malzemeler	23
3.2.1. Deneylede Kullanılan Kimyasal Maddeler	23
3.2.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	23
3.2.3. Çözücü sistemi	24
3.3. Gaz Kromatografi ve çalışma şartları	24
3.4. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanması	25
3.5. Geri kazanım çalışmaları	26
3.6. Serumların hazırlanması	26
3.7. Ekstraksiyon	27
4. BULGULAR	28
5. TARTIŞMA	31
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	36
7. KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ	42

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Organik fosforlu pestisitlerin genel formülleri	5
Şekil 2.2. Diklorvosun biyotransformasyonu	7
Şekil 2.3. Pestisitlere maruz kalma tipleri	7
Şekil 3.1. Gaz kromatografi cihazı	25
Şekil 3.2. Diklorvosun kalibrasyon eğrisi	25
Şekil 3.3. Sıçanlardan örneklerin alınması	27
Şekil 3.4. Rotary evaporatör	27
Şekil 3.5. Katı-sıvı ekstraksiyon ünitesi	27
Şekil 4.1. Gaz Kromatografi(NPD) cihazında 3 µg/ml DDVP piki	30
Şekil 4.2. DDVP bulunmayan blank sıçan kanı piki	30
Şekil 4.3. 110 mg/kg DDVP verilen sıçandan alınan kan örneğindeki DDVP piki	30

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Türkiye’de üretimine ruhsat verilen organik fosforlu pestisitler	4
Çizelge 2.2. Diklorvosun bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri	6
Çizelge 2.3. 1988-1992 yılları arasında Refik Saydam Zehir Danışma Merkezinin yapılan pestisit zehirlenmesi başvurularının dağılımı	13
Çizelge 2.4. Refik Saydam Zehir Danışma Merkezine 1998 yılında organik fosforlu pestisit zehirlenmesi ile başvuran olguların aktif maddenin cinsine göre dağılımı	13
Çizelge 2.5. Akut organik fosforlu pestisit zehirlenmesinin belirti ve bulguları	14
Çizelge 2.6. Çeşitli organik fosforlu pestisitlerin idrardaki alkil fosfat metabolitleri	20
Çizelge 2.7. Organik fosforlu pestisit zehirlenmesinin sınıflandırılması ve plazma psödokolin esterase aktivite ölçümü ile izlenen tedavisi	22
Çizelge 4.1. 110 mg/kg dozunda DDVP verilen sıçanların kanının postmortem değişimi	28
Çizelge 4.2. DDVP’nin sıçan kanındaki miktarları	29
Çizelge 5.1. Farklı laboratuvar tekniklerinin spesiflik, hassasiyet ve hızlılık yönünden karşılaştırılması	33

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AchE	Asetil kolinesteraz
ChE	Kolinesteraz
DDVP	Diklorvos (2,2-diklorovinil dimetilfosfat)
GC	Gaz Kromatografi
L	Litre
LD ₅₀	Öldürücü Doz
LLE	Sıvı Sıvı Ekstraksiyon
NPD	Azot Fosfor Dedektör
mg	Miligram
ppm	Milyonda bir kısım, part Per million
SPE	Katı Faz Ekstraksiyon
TİSİT	Tarım ilaçları sanayici ithalatçı ve temsilcileri derneği
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
µg	Mikrogram

ÖZET

Akut Organofosfatlı Pestisit Entoksikasyonlarının Sıçanlarda Deneysel Olarak Gösterilmesi

Geniş tarım alanları olan Çukurova Bölgesinde yaygın pestisit kullanımına bağlı akut zehirlenmeler ve ölüm olayları oluşmaktadır. Bu nedenle yöremiz açısından büyük önem taşıyan akut ve kronik pestisit entoksikasyonlarının aydınlığa kavuşabilmesi ve ölüm nedeninin saptanması Adli Toksikoloji Laboratuvarında yapılacak analizlerle belirlenecektir.

Adli Tıp Kurumu, zehir danışma merkezleri ve laboratuvarımıza gelen organofosfatlı pestisit zehirlenmesi olgularında diklorvos en sık rastlanılan pestisit olduğu için deneysel hayvan çalışmasında bu pestisitle meydana gelen akut zehirlenmeler değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda, 40 adet wistar albino cinsi erkek sıçana diklorvos farklı miktarlarda gavaj yöntemi ile verilmiş ve alınan postmortem kan örneklerinin Gaz Kromatografi (NPD) cihazı ile analizleri yapılmıştır. Analizler sonucunda kandaki diklorvos miktarları, sıçanlara 225 mg/kg diklorvos verildiğinde en yüksek değer 4.97, en düşük değer 2.15 ve ortalama değer 2.97mg/L, 110 mg/kg diklorvos verildiğinde en yüksek değer 1.71, en düşük değer 1.50 ve ortalama değer 1.62 mg/L, 55 mg/kg diklorvos verildiğinde en yüksek değer 0.3425, en düşük değer 0.1043 ve ortalama değer 0.2006 mg/L, 20 mg/kg diklorvos verildiğinde en yüksek değer 0.0437, en düşük değer 0.0163 ve ortalama değer 0.0310 mg/L olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada kullanılan yöntem ve elde edilen değerler günlük uygulamalarda bir parametre olarak kullanılacaktır.

Akut organofosfatlı pestisit entoksikasyonlarının aydınlatılmasında bu çalışmanın önemli bir yer tutacağı kanısındayız. Bu çalışma bir ön deneysel araştırma raporu şeklinde olup, sıçan kan, doku ve organlarının geniş serilerde çalışılması ile günlük adli toksikoloji uygulamalarında anlamlı yerini alacaktır.

Anahtar Sözcükler: Adli Toksikoloji, Diklorvos, GC/NPD, Sıçan, Çukurova Bölgesi.

ABSTRACT

An Experimental Study on the Evaluation of Acute Organophosphorus Pesticide Intoxications of Rats

Çukurova region is a large agricultural and industrial area and pesticide use is common. Therefore acute and chronic exposures and poisonings due to pesticides are more often than any other regions. It is important to understand the mechanisms and cause of death in all medico-legal cases. Laboratory analysis has of value and importance especially in those intoxication cases.

Dichlorvos is the most common pesticide detected in organophosphorus pesticide intoxication cases. Scientists and medicals have to deal with pesticide poisonings at many departments, such as, forensic toxicology laboratories, forensic medicine institutes and also emergency rooms. An experimental rat study is of valuable on dichlorvos which has been carried out in order to determine the mechanism and parameters of poisoning.

In our study, dichlorvos was given to 40 wistar albino male rats in variable doses by gavage method and postmortem blood samples were analysed by Gas Chromatography (NPD) device. Our results are showing the below as; the amount of dichlorvos in blood, when 225 mg/kg dichlorvos was orally given to rats: maximum 4.97, minimum 2.15 and average 2.97 mg/L, when 110 mg/kg dichlorvos was orally given to rats: maximum 1.71, minimum 1.50 and average 1.62 mg/L, when 55 mg/kg dichlorvos was orally given to rats: maximum 0.3425, minimum 0.1043 and average 0.0163 mg/L, when 20 mg/kg dichlorvos was orally given to rats: maximum 0.0437, minimum 0.0163 and average 0.0310 mg/L.

The method and also the results of this study will apply in our daily routine laboratory.

This is a plenary research report. It is believed that this study has an importance in evaluating acute pesticide intoxications cases at our region. It is suggested that there should be further and larger serial studies on rat tissues and bloods.

Key Words: Forensic Toxicology, Dichlorvos, GC/NPD, Rat, Çukurova Region.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Organofosfatlı pestisitler yüksek akut toksisiteleri, geniş etki alanları ve doğada hızla biyodegradasyona uğramaları sebebi ile tarımda en yaygın olarak kullanılan pestisit gurubunu oluşturmaktadır. Başlıca toksik etkileri, kolinesteraz enzimini inhibe etmelerine dayanır. Organik fosfatlı pestisitler tüm membranlardan kolaylıkla emilirler. Deri, konjunktiva, akciğer ve özellikle de oral yoldan alındıklarında hızla absorbe olurlar. Toksisitenin şiddeti, asetilkolin esterazın inhibisyon derecesine bağlıdır^{1,2}.

Çukurova bölgesinde yoğun olarak tarım yapılması ve kırsal alandaki nüfusun hemen hepsinin tarım sektöründe çalışması, Türkiye genelinde tüketilen tarım ilaçlarının %70 gibi bir bölümünün bu yörede tüketilmesi pestisitlerin toksik etkileriyle karşılaşabilecek insan sayısını arttırmaktadır³.

Geniş tarım alanı olan Çukurova Bölgesinde yaygın kullanıma bağlı olarak akut zehirlenmeler oluşmaktadır. Bu geniş kullanım, Adli Tıp açısından da orijini gerek intihar, gerek cinayet ve gerekse kaza olsun insanlarda zehirlenmeler ve bunların sonucunda da ölüm meydana getirmeleri sebebi ile önem kazanmaktadır³.

Tarım ilaçlarına bağlı akut entoksikasyon olgularının Çukurova yöresinde medikolegal araştırma isteyen ölümler arasında önemli bir yer tutması nedeniyle bu çalışma amaçlanmıştır.

Akut ve kronik tarım ilacı entoksikasyonlarında klinik bulgular nonspesifiktir. Bu tür olgularda klinikte kesin tanı ancak sorumlu maddenin kendisinin veya metabolitinin tesbiti ile mümkün olacaktır.

Pestisitlere akut veya kronik maruz kalımlarının, vücutta karakteristik patolojik lezyon yapmadığından, bu kimyasallara maruz kalan bireylerin değişik doku ve vücut sıvısındaki kimyasalların varlığı ve toksik düzeyinin belirlenmesi, ancak uygun yöntemlerin uygulanması ile mümkün olacaktır. Bu yöntemlerin uygulanmaması, bireyin ölüm nedeni ve mekanizmasının anlaşılabilmesi halinde, özellikle adli olgularda pozitif bir delil olarak kullanılamayacaktır. Bu da yanlış tanı ve tedavilerin oluşması yanında, hatalı adli ve sosyal sonuçlara da yol açabilecektir.

Bu çalışmanın amacı, ülkemizde kaza veya cinayet olarak meydana gelen organik fosforlu pestisitlere maruz kalma insidansını ve tehlike oluşturan organik fosforlu pestisitlerin Adli Toksikoloji Laboratuvarında belirlenmesidir.

Çalışmamızda iki farklı ekstraksiyon yöntemi kullanılarak diklorvos için geri kazanım oranları karşılaştırmalı olarak hesaplanacak ve uygun ekstraksiyon yöntemi belirlenecektir. 40 adet wistar albino cinsi sıçana farklı miktarlarda diklorvos verilecek ve akut olarak zehirlenen sıçanlardan alınan kan örnekleri Gaz Kromatografi (NPD) cihazında analizleri yapılacaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Organik Fosforlu Pestisitlerin Üretimi ve Kullanımı

Pestisitler bütün dünya ülkeleri tarafından kullanılmakta, kullanım sıklığı ve miktarı ülkede üretilen ürünler, iklim şartları, mevcut zararlılar ve ülkenin gelişme düzeyi gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Organik fosfatlı insektisitler en çok kullanılan pestisit grubu olup, pestisitlerin önemli bir kısmını oluştururlar. Bugün 200'den fazla farklı organik fosfatlı insektisit etkili aktif madde bulunmaktadır. İlk organik fosforlu insektisitler, 1937'de Almanya'da Schrader önderliğinde bir grup kimyager tarafından sentezlenmiştir. Bu sentezlenen ve deneme ürünlerinin son derece toksik olduğu gösterilmiş ve II. Dünya Savaşında nazilerin kontrolünde tutulmuştur. Bunların bir kısmı kimyasal savaş silahı olarak geliştirilmiştir. Bunlardan Tabun ve Sarinin sentezi sır olarak saklanmıştır. Sinir gazı ismi verilen bu tip organik fosforlu bileşiklerin memelilere toksik olduğu gibi, insektisit özelliği de olduğu anlaşılmış ve bu amaçla TEPP (tetraetil pirofosfat) sentezlenmiştir. 1944 yılında Schrader, daha dayanıklı bir bileşik olan Paration ve oksijen analogu paraoksonu sentez etmiştir. Bu yıldan sonra da organik fosfat yapısındaki insektisitlerin üretimi ve kullanımı artmıştır. Ancak 1950'li yıllardan sonra DDT yerini parationun alması ile birçok fatal ve akut zehirlenme olayları bildirilmiştir^{1,4}.

2.1.1. Dünyadaki durum

Organik fosforlu pestisitler en önemli pestisit sınıfını oluştururlar ve insektisit olarak kullanımlarının yanı sıra az da olsa herbisit olarak kullanılırlar. En büyük kullanım alanları tarımdır. Halk sağlığının korunması ve vektör kontrol amacıyla kullanımları da önemlidir. Bu bileşikler, ayrıca bahçe ve sera bitkilerinde kullanılmak için serbestçe piyasada satılmakta, böylece çok yaygın olarak kullanılmaktadır. WHO'nun raporlarına göre Kaliforniya'da 1982-1990 yılları arasında organik fosforlu pestisitlerle zehirlenme olguları 2031 olarak bildirilmiştir.⁵

Organik fosforlu bileşikler gelişmekte olan ülkelerde kullanılmakta olan en önemli pestisit çeşididir ve gelecekteki on yılda kullanımlarının iki kat artacağı tahmin edilmektedir⁶. Ancak global kullanımla ilgili bilgiler eksiktir. Buna göre 1985 yılındaki global pestisit kullanımının 3 milyon ton olduğu tahmin edilmektedir. Bu pestisitlerin

dağılımı %46 herbisit, %31 insektisit, %18 fungusittir. Diklorvos'un 1984 yılı global ürtemi 4.220 ton olarak verilmektedir⁷.

2.1.2. Ülkemizdeki durum

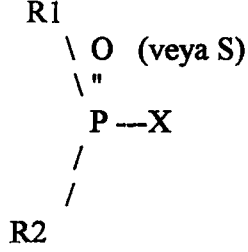
Türkiye'de tarımsal amaçla 1483 ilaçta 346 aktif madde kullanılmaktadır. Bunların yaklaşık 30 tanesi 100 tonun üzerinde tüketilmektedir. Ülkemizde 1996 TİSİT verilerine göre 53 adet organofosfatlı pestisitün üretimi için ruhsat verilmiştir⁸.

Çizelge 2.1. Türkiye'de üretimine ruhsat verilen organik fosforlu pestisitler

1. Acephate	28. Omethoate
2. Azinphos-methyl	29. Oxydemeton-methyl
3. Bromophos	30. Parathion
4. Chlorfenvinphos	31. Parathion-methyl
5. Chlorpyrifos	32. Phenthoate
6. Chlorpyrifos-methyl	33. Phorate
7. Dialifos	34. Phosalone
8. Diazinon	35. Phospholan
9. Phosmet	36. Malathion
10. Mephosfolan	37. Phosphamidon
11. Dichlorvos	38. Phoxim
12. Dicrotophos	39. Primphos-methyl
13. Dimethoate	40. Profenofos
14. Dioxathion	41. Profenofos+Cypermethrin
15. EPN	42. Prothiophos
16. Ethion	43. Prothoate
17. Ethoate-methyl	44. Pyridaphenthion
18. Etrimfos	45. Quinalphos
19. Fenitrothion	46. Tetrachlorvinphos
20. Fenthion	47. Thiometon
21. Formothion	48. Triazophos
22. Heptenophos	49. Trichlorfon
23. Isofenphos	50. Vamidothion
24. Methacrifos	51. Methamidophos
25. Methidathion	52. Monocrotophos
26. Mevinphos	53. Omethoate
27. Oxydemeton-methyl	

2.2. Organik fosforlu pestisitlerin kimyasal yapı ve özellikleri

Organik fosforlu pestisitler fosforik, fosfonik, fosforotioik veya fosfonotioik asitlerin ester, amid veya tiyol türevleridir. Genel formülleri Şekil 2.1’de verilmiştir⁶.

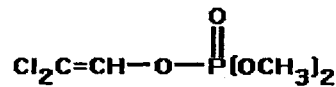


Şekil 2.1. Organik fosforlu pestisitlerin genel formülleri

Organik fosforlu esterlerin kimyasal stabiliteleri kullanımlarını, çevrede olan kalıcılıklarını ve canlı organizmalara olan muhtemel toksik etkilerini oldukça etkiler. Şekil 2.1.’de görülen R_1 ve R_2 fosfora doğrudan veya $P = O$ veya $P = S$ ile bağlanabilir ve alkil gruplarını ifade eder. R_1 doğrudan, R_2 ise (-O-) veya (-S-) bağlı ile (P) a bağlanınca ‘fosfonat’ olarak isimlendirilir. Karbon atomu (C), fosfora (P), amino (-NH) grubu ile bağlanırsa fosforoamidat tipi organik fosforlu insektisit ortaya çıkar. (X) ise substitüe veya dallanmış alifatik, aromatik veya heterosiklik bir grup olabilir^{6,9}.

2.2.1. Diklorvos’un Yapısı

Diklorvos’un kimyasal adı 2,2-diklorovinil dimetilfosfatdır.¹⁰



Diklorvos renksizden amber rengine kadar değişen, aromatik kokulu bir sıvıdır. Bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri çizelge 2.2’de verilmiştir. Suda yavaş, asitler ve alkalilerde çabuk hidrolize olur. Böceklerde, yaprak bitlerinde, beyaz sineklerde, kırmızı örümceklerde, seraların gazlanmasında, sivrisinek ve ambar zararlıları mücadelesinde kullanılan insektisittir.

Çizelge 2.2. Diklorvosun bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri¹⁰

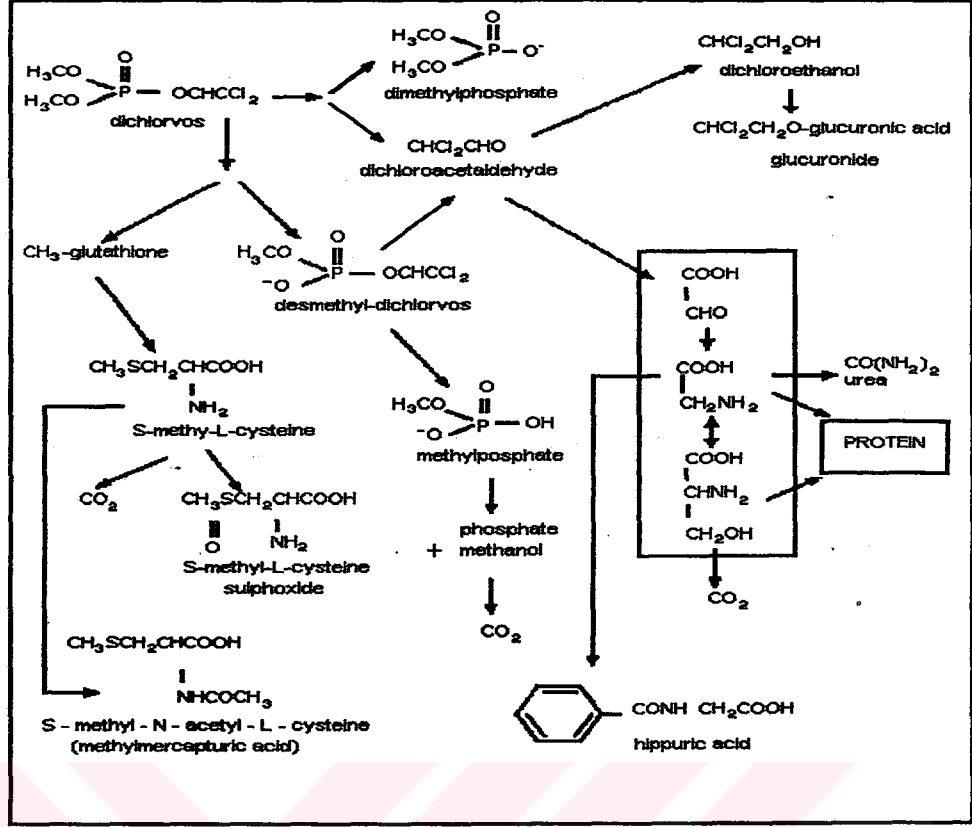
Moleküler Kütle	221
Kaynama Noktası	35 C, 6.7 Pa (0.05 mm/Hg) 74 C, 133 pa (1 mm/Hg)
Buhar Basıncı (20 °C)	1.6 Pa (1.2 10 ⁻² mm/Hg)
Yoğunluk (35 °C)	1.45
Refraksiyon İndeksi	ND ₂₅ =1.4523
Çözünürlük	20 °C de 10g/1 su 2-3g/kg kerosen; Organik çözücülerin ve aerosol itici gazların çoğuyla karışır
Stabilite	Isıya karşı stabildir fakat suda hidroliz olur
Log n-oktanol / su dağılım katsayısı	1.47

Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar diklorvosun detoksifikasyonunun karaciğerde olduğunu ortaya çıkarmıştır. İn vitro çalışmalar sıçan karaciğerinin diklorvosu iki ana enzimatik yolla bozduğunu göstermiştir. Bu yollardan glutatyona bağlı olan desmetildiklorvos, glutatyona bağlı olmayı ise dimetilfosfat ve DCA (diklorasetaldehit) oluşumu ile sonuçlanır. Desmetilklorvosun DCA ve monometilfosfata degradasyonunda glutatyona bağlı değildir. DCA, NADH mevcudiyetinde dikloroetanol ve muhtemelen de dikloroasetata indirgenir.

Diklorvosun değişik türlerdeki metabolizması birbirine benzer ve hızlıdır. Türler arasındaki fark metabolitlerin tabiatından ziyade metabolit oluşum hızı ile ilgilidir.

Desmetildiklorvos metil-oksijen bağının hidrolizi ile oluşur ve DCA, monometilfosfat ve dimetilfosfata ayırır. Desmetildiklorvos yanısıra S-metil-glutatyonda oluşur ve metilmerkapturik aside degrade olarak idrarla atılır.

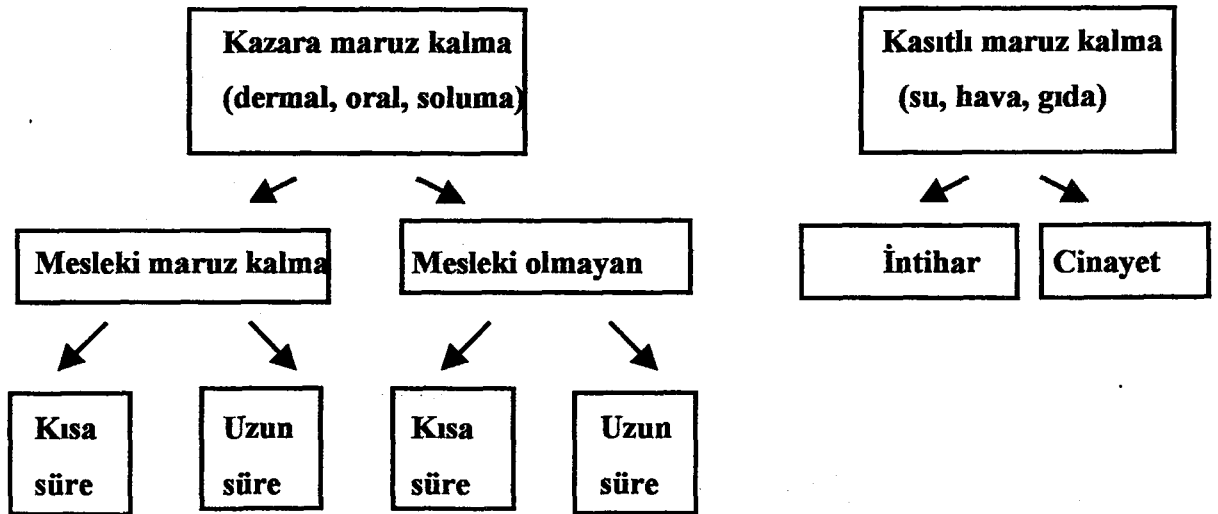
Diklorvos molekülünün vinil kısmının iki ana metabolizma yolu a) dikloroetanol glukronidi ve b) hippurik asit, üre, karbondioksit ve diğer endojen biyokimyasal maddeler oluşumuna neden olur. İdrarda bu bileşiklerin bulunması her iki yolun insanlarda da olduğunu göstermektedir¹⁰.



Şekil 2.2. Diklorvosun biyotransformasyonu.

2. 3. Organik fosforlu pestisitlere maruz kalma kaynakları

Tüm pestisitler gibi organik fosforlu pestisitlere maruz kalma çeşitli şekilde sınıflandırılabilir; akut, kronik, mesleki, mesleki olmayan, kasıtlı, kazara gibi^{11,12}.



Şekil 2.3. Pestisitlere maruz kalma tipleri

2.4. Organik Fosforlu Pestisitlerin Kinetiği:

Organik fosforlu insektisitler tüm vücut membranlarından kolaylıkla emilirler. Örneğin deri, konjunktiva, akciğer ve özellikle (Adli Tıp açısından intihar, kaza, cinayet orijinli olarak) oral yoldan alındıklarında hızla absorbe olmaktadır. Organik fosfatlı insektisitlere maruz kalma evde, bahçede üretim, depolama, nakil, kullanım veya atılmaları esnasında kazaen bulaşma yolu ile olur. Gıda ve içme suyu ile yüksek miktarda organik fosfatlı pestisitlere maruz kalma riski kaza durumları hariç tutulursa fazla değildir. Ancak bu ilaçların yoğun olarak kullanıldığı tarlaların yakınında yaşayan kişilerin soludukları havadan ve gıdaların kontaminasyonu ile maruz kalmaları söz konusu olabilir. Kullanılmış pestisit ambalaj ve kutularının etkisizleştirilmeden gelişigüzel atılmaları, besin maddeleri veya tıbbi ilaçlarla bir arada bulundurulmalarından kaynaklanmaktadır^{1,4,6,13}.

2.4.1. Maruz Kalma Yolları

2.4.1.1. Oral

Kaza (özellikle çocuklarda) ya da intihar olayları genellikle oral yolla alınan pestisitler sonucu meydana gelmektedir. Bölgemizde yoğun tarıma bağlı olarak pestisitler kolayca bulunabilmekte ve her yıl binlerce kişi bu maddeleri intihar amacıyla olarak zehirlenmektedir. Pestisitlerin amacı dışında kullanılması ve bitmiş pestisit ambalaj kutularının rastgele atılması gibi nedenler de kaza sonucu oral alımlara neden olmaktadır^{14,15}.

Sıçanlarda LD₅₀ 'nin altında dozlarda yapılan deneysel çalışmalar organik fosforlu insektisitlerin hızla vücuda alındığını göstermektedir. Ancak henüz cevaplanmayan bir konu ise bu durumun toksisitesi düşük bileşiklerin yüksek dozlarda alınmasında geçerli olup olmadığıdır. Ancak tek büyük doz yerine birkaç defaya bölünerek verilen aynı miktardaki aktif madde daha fazla toksik etki gösterebilir.

2.4.1.2. Solunum

Mesleki olarak organik fosforlu pestisitlere maruz kalanlarda solunum yolundan maruz kalma oral ve deri yolu kadar olmasa da, toksikolojik açıdan önemlidir.¹⁶ Organik fosforlu insektisitlerin çoğunun sıvı olmasına rağmen buhar basınçları normal şartlarda havada belli konsantrasyonlarda bulunmalarını sağlayacak kadar yüksektir.

Ayrıca aerosol, çok küçük inert maddelere emdirilmiş toz veya bileşikler halinde kullanıldıklarında solunum yoluna etkileri artar^{6,10,17,18}.

2.4.1.3. Dermal

Pestisit kullananların birincil maruziyet yolu deriden emilimdir. İnsektisit kullanımı ile ilgil deriden emilim riski aktif maddenin etkisine, maruz kalan kişinin hassasiyetine ve maruz kaldığı süreye bağlıdır. Tahrip edilmiş veya hastalıklı deri normal geçişi etkiler. Tahrip olmuş deriden tüm pestisitlerin geçişi artar^{14,19}.

2.4.2. Dağılım

Organik fosforlu pestisitlerin etkin kimyasal tabiatları vücuda girer girmez derhal biyotransformasyona uğramalarına ve doku elemanları ile reaksiyona girmelerine neden olur. Literatürde organik fosforuların dağılımı ve birikimi ile ilgili çok çalışma bulunmamaktadır. Fakat lipofilik özellikleri nedeni ile bazı fosforotiotlar (klorprifos gibi) vücutta günlerce veya haftalarca kalabilir ve şiddetli vakalarda iyileşme sonrası klinik etkilerin yeniden ortaya çıkmasına neden olur. Bu durum adipoz dokuda depolanmış organik fosforlu pestisitlerin mobilizasyonu ile izah edilebilir²⁰⁻²⁷.

Diklorvos içerek intihar eden olgunun postmortem doku dağılımı incelenmiş ve ölümden bir gün sonra yapılan otopside yüksek DDVP miktarı kalp ve dalakta bulunmuştur.

Diklorvos'un tek dozda sıçanlarda ağızdan tatbik edilmesinden sonra hemen absorbe edildiği, dokulara dağıldığı, hidroliz olduğu ve hızla biyotransformasyona uğradığı saptanmıştır.

2.5. Biyolojik yarı ömür

Organik fosforlu pestisitlerin ve metabolitlerinin in vivo yarı ömürleri genelde çok kısadır. Lipofilik özellik taşıyanlar vücutta günler veya haftalarca kalabilirler. Örneğin, leptofos'un eliminasyon yarı ömrü 14 gündür⁶.

Blair et. al. diklorvosun metabolizmasının çok hızlı olması nedeniyle biyolojik yarı ömrünü saptayamamıştır. Parenteral enjeksiyon haricinde diğer yollardan diklorvosa maruz bırakılan hayvanların kan ve dokularında metabolize olmamış diklorvos gösterilememiştir. Sıçan ve fareler ancak 4 saat 90 mg/m³ konsantrasyonda

diklorvosa maruz bırakıldıktan sonra dokularda diklorvos saptanabilmiştir. 50 mg/m³ konsantrasyona, 2 veya 4 saat maruz bırakılmadan sonra sıçan böbreğinde yarı ömür 13.5 dakika tesbit edilmiştir²⁹.

2.6. Toksikite

2.6.1. Etki mekanizması

Organik fosforlu pestisitler biyolojik etkilerini enzim inhibitörü olarak gösterirler. Esterazlar böcek ve memeli türlerindeki organik fosforlu toksisitesi için hedef enzimlerdir.

Sinir sisteminin çalışması ile yakından ilişkisi olan en önemli enzim kolinesterazdır. Kolinesteraz iki gruba ayrılır. Eritrositlerde bulunan kolinesteraza asetil kolinesteraz, serumda bulunanlara ise psödo kolinesteraz adı verilmiştir. Toksik etkilerin ortaya çıkmasına sebep olan asetil kolinesteraz (AChE) 'ı inhibe etmeleri, biyotransformasyonları ile çok yakından ilgilidir. Bütün tiyofosforik asit esterleri için in vivo olarak 'okson' metabolitlerine dönüşürler. P=S bağı içeren organik fosfatlı insektisitler, aktif kolinesteraz inhibitörleri değildirler. Aktivasyon için P=S 'in P=O grubuna oksidasyonları gerekmektedir.^{1,4,30}

Buna göre organik fosfatlı insektisitler iki tiptir.

1- Direkt Etkililer: Metabolik aktivasyon gerekmeksizin kolinesteraz (ChE) inhibitörüdürler. Sinir gazlarından Sarin, Tabun; insektisitlerden TEPP ve dikloro divinil fosfat (DDVP), P=O yapısında olduklarından kolinesterazı doğrudan inhibe ederler.

2- İndirekt Etkililer: Fosforotiyoat yapısındadırlar ve okso şekline dönüştükten sonra aktivite kazanırlar. Örneğin Malathion- Malaokson'a, Parathion-Paraokson'a metabolize olduktan sonra AChE'yi inhibe ederler.

Parasempatik sinapsların (gangliyon öncesi ve sonrası), sempatik gangliyon öncesi sinapsların ve sinir kas bağlantılarını etkileyen otonomik ve merkezi sinir sisteminin hayati derecede önemli kimyasal nörotransmitteri AChE tarafından hidroliz edilerek kolin ve asetile dönüştürülür. Böylece sinapslardaki normal fonksiyonunu yapabilir^{30,31}.

Organik fosfatlı insektisitler toksik etkilerini, 'Asetil kolinesteraz' enzimini irreversibl olarak inhibe ederek gösterirler. Bu etkilerini spesifik bir organik fosfatlı

insektisit olan parathionun primer metaboliti paraoksan ile AchE arasında meydana gelen reaksiyon örneğinde gösterebiliriz^{32,33,40}.

Organik fosfatlı insektisitlerin etkisi AchE'ı irreversibl inhibe etmeleri, aynen doğal substrat (asetil kolin) gibi enzimi esteratik merkezinde serin molekülüne bağlanmaları ve böylece enzimin aktif merkezini bloke etmeleri şeklindedir. Normal substrat ve inhibitörün enzime yaklaşım bağlanmaları ve hidroliz ile ayrılmaları benzer hızdadır. Fakat normal substrat ile reaksiyonda enzimin rejenerasyonu ne kadar çabuk ise fosforilasyona uğramış enzimin hidrolizi de o kadar yavaştır (10 gün). Bundan dolayı AchE aktivitesi ancak karaciğerde yeni enzim yapımından sonra normal düzeyine yükselir. Bu da zehirlenmenin şiddetine göre 5 haftaya kadar uzayabilir³⁴.

Insektisit etkili N-metil karbamatlar da kuvvetli kolinesteraz inhibitörleridir. Karbamatlıların kolinesteraza bağlanma kuvveti ve etki süresi organik fosfatlı insektisitlerden farklıdır. Karbamatlılar kolinesterazın enzimatik bölgesinde 48 saat içinde kendiliğinden hidroliz olur. Halbuki organik fosfatlılar için bu durum geçerli değildir. Organik fosfatlı insektisitler AchE 'ın normal fonksiyonunu bozmak sureti ile toksik etkilerini gösterirler.

Organik fosfatlı insektisitlerin farmakolojik ve toksikolojik etkileri esas itibariyle AchE'in inhibisyonu ve bunun sonucu olarak sinapslarda AchE 'ın aşırı derecede birikmesinden kaynaklanmaktadır. Bu aşırı birikim önceleri merkezi sinir sisteminde kolinerjik sinaptik iletimi, somatik sinirleri, otonomik gangliyonları, parasempatik sinir uçlarını ve bazı sempatik sinir uçlarını uyarır ve daha sonra felce yol açar.

AChE inhibisyonunda; inhibisyona neden olan maddelerin alınış şekli, temasın süresi, yağdaki çözünürlüğü ve maddenin vücutta hidroliz olma özelliği, kolinesterazın aktif bölgesine bağlanma eğilimi, toksinin doğrudan etki etmesi veya önce metabolize olup aktif hale geçtikten sonra etki etmesi gibi bazı sebepler rol oynarlar. Bundan dolayı semptomların başlangıcından önceki belirti vermeyen süreye kuluçka süresi denir ve bu süre değişkenlik gösterir^{4,6,17,33,35}.

Diklorvos sinir sistemi ve diğer dokulardaki asetilkolinesteraz aktivitesini direkt olarak inhibe eder. Bu reaksiyon üç basamakta gerçekleşir.¹⁰

a) Diklorvosun enzime reversible bağlanması,

- b) Dikloroasetilaldehit kaybı ile enzimle dimetilfosfo-enzim türevi oluşturmak üzere reaksiyona girme,
- c) Fosfo-enzim bileşiğinin daha stabil olan metilfosfo-enzim türevine dönüşerek yaşlanması.

Bazı organik fosforlu pestisitler asetilkolinesterazdan ayrı sinir dokusu esterazını etkileyerek gecikmiş nöropati oluştururlar. Deney hayvanları ile yapılan çalışmalar diklorvosun bu etkisinin olup olmadığını açıkça göstermemektedir. Ancak diklorvosla şiddetli bir şekilde zehirlenen ve tedavisi sonucu iyileşen dört kişi daha sonra nörotoksik etkiler göstermiştir. Bu nedenle insanlarda nörotoksik etkisi olmadığı düşünülemez fakat muhtemelen oral yoldan aşırı dozda alım ile oluşmaktadır.

2.6.2. Toksikite değerleri ve insanda toksisiteyi etkileyen faktörler

Organik fosforlu pestisitlerin akut toksisiteleri birbirinden oldukça farklıdır. İnsanlar için oral LD₅₀ < 5 mg/kg'dan 0.5 – 5 g/kg'a kadar değişebilir. Diklorvosun letal dozu (oral alımlarda) sıçanlarda 32 – 108 mg/kg'dır^{10,36}.

Diğer pestisitlerde olduğu gibi organik fosforlu insektisite maruz kalım sonucu meydana gelecek etkinin şiddeti doza, maruz kalım yoluna, emilim kolaylığına, insektisit ve metabolitlerinin oluşturduğu etki tiplerine, vücutta kalış ve birikimine bağlıdır.

2.7. Organik fosforlu pestisitlerle zehirlenmeler ve ülkemizdeki durum

Ülkemizde pestisit zehirlenmeleri önemli boyutlardadır. Zehir merkezine yapılan başvurularda pestisitler, ilaç zehirlenmelerinden sonra ikinci sırada yer almaktadır. Aşağıdaki tabloda zehir merkezine açılışından itibaren yapılan pestisit zehirlenmeleri başvurularının aylara göre dağılımı yer almaktadır. Bu başvuruların büyük bir kısmını (%32.5) organik fosforlu pestisitler oluşturmaktadır. Çizelge 2.3.'de 1992 yılında Zehir Danışma Merkezine yapılan pestisit zehirlenmesi başvurularının sınıflarına göre dağılımı yer almaktadır³⁷.

Çizelge 2.3. 1988-1992 yılları arasında Refik Saydam Zehir Danışma Merkezine yapılan pestisit zehirlenmesi başvurularının dağılımı.

Ay	1988	1989	1990	1991	1992
Ocak	–	31	21	33	31
Şubat	–	23	33	25	31
Mart	4	29	34	35	38
Nisan	8	23	18	43	58
Mayıs	27	35	42	44	55
Haziran	21	46	59	75	87
Temmuz	37	46	66	49	101
Ağustos	21	38	55	47	95
Eylül	19	21	49	39	54
Ekim	10	24	69	33	50
Kasım	13	12	33	37	52
Aralık	29	28	36	23	39
TOPLAM	189	356	515	493	691
%tüm vakalara göre	11.80	10.01	9.98	9.53	10.48

Çizelge 2.4. Refik Saydam Zehir Danışma Merkezine 1998 yılında organofosforlu pestisit zehirlenmesi ile başvuran olguların aktif maddenin cinsine göre dağılımı

Pestisit	Olgu sayısı
Diklorvos	61
Metamidofos	22
Paration	19
Diazinon	35
Malation	10
Propetamfos	9
Klorpirifos	6
Triklorfon	5
Azinfosmetil	4
Fention	4
Fenitroton	2
Methidation	2
Klorfenvinfos	1
Dimetoat	1
Ometoat	1
Quimifos	1
Diğerleri	43
TOPLAM	226

2.8. Organik fosforlu pestisitlerle zehirlenme belirtileri

Organik fosfatlı zehirlenmeler akut, subakut ve kronik tipte olabilir. Toksisitenin şiddeti, asetil kolinesterazın inhibisyon derecesine bağlıdır. Asetil kolin miyonöral birleşme yerleri (sinir son plakta), parasempatik ve beyindeki postgangliyoner lif uçlarında ve bütün otonomik gangliyonlarda birikir. Bu nedenle, organik fosfatlı bileşiklerle meydana gelen zehirlenme belirtileri muskarinik, nikotinik ve merkezi sinir sisteminin aşırı stimülasyonu şeklindedir.

2.8.1. Klinik Etkiler

2.8.1.1. Akut Etkiler

Organik fosforlu pestisit zehirlenmelerinin klinik görünümü ve şiddeti sadece pestisite ve maruz kalım şiddetine bağlı olmayıp, maruz kalım yolu, hastanın yaşı, maruz kalım şekli, formülasyondaki çözücü gibi birçok faktöre bağlıdır.

Klinik tablo asetikolinin sinir uçlarında birikmesi sonucunda oluşur. Belirti ve bulgular muskarinik, nikotinik ve merkezi sinir sistemi etkileri olmak üzere üç grupta toplanabilir. Belirti ve bulguların hepsi çeşitli kombinasyonlarda, değişik sürelerde ortaya çıkabilir. Hafif zehirlenmelerde sadece muskarinik nikotinik etkiler görülebilir. Şiddetli vakalarda merkezi sinir sistemi daima etkilenir^{1,4,6,34}.

Çizelge 2.5. Akut organik fosforlu pestisit zehirlenmesinin belirti ve bulguları

Etki	Belirti ve bulgu
Muskarinik	Gözyaşı, tükürük, burun salgısı ile bronşiyal sekresyonun artması sonucu akciğer ödemi, mide-bağırsak salgısının ve peristaltizminin artması sonucu kusma, ishal, kolitler ayrıca miyos ve uyum spazmı nedeni ile görme bozuklukları ile bradikardi ve terleme görülür.
Nikotinik	Otonomik gangliyonlarda ve motor uç plaklarında asetilkolin birikmesi sonucu oluşurlar. Felce dönüşebilen kas fasikülasyonu, kramp, arafleksiya ve zayıflık ile yüksek tansiyon, taşikardi, göz bebeği büyümesi ve renk solukluğu, solunum kaslarının zayıflamasından sonra gelen solunum güçlüğü görülür.
Merkezi sinir sistemi	Hareketsiz kalamama, duygusal değişkenlik, baş ağrısı, titreme, uyuklama, zihinsel karışıklık, konuşma bozukluğu, ataksi, genel zayıflık, reflekslerin kaybolması, delirium, psikoz, nefes darlığı, koma, solunum depresyonu, siyanoz ve ölümdür. Ölüm solunum yetersizliği sonucu asfiksi nedeni ile oluşur, genel olarak semptomlar maruz kalmadan sonraki birkaç dakika ile birkaç saat içinde ortaya çıkar. Tedaviye başlanmazsa ölüm 24 saat içinde görülür.

2.8.1.2. Subakut Etkiler

Subakut zehirlenme ise, organik fosforlu bileşiğe sık maruz kalma ile görülür. Semptomlar akut zehirlenmede olduğu gibidir. Bu tip zehirlenmeler en çok insektisit fabrikalarında ve tarımda ilacı uygulayanlar arasında rastlanır. Uygulama sırasında, buhar veya aerosol şeklinde organik fosforlu insektisitlere maruz kalma ile lokal etkiler görülebilir⁴.

2.8.1.3. Kronik Etkiler

Organik fosforlu bileşiklerin çoğu hızla metabolize edilip, hızla atılırlar. Ancak bazı organik fosforlu bileşiklerin kolinesteraz inhibisyonunun yavaş geri dönüşümlü olması bu etkinin birikmesine neden olabilir. Böylece, kişilerde sürekli kolinesteraz inhibisyonu olmasına rağmen hiçbir belirti ortaya çıkmaz. Bir defada yüksek doz alınması ile ortaya çıkan belirti ve bulgular, bu şekilde düşük ve tekrarlanan dozların kritik düzeye ulaşması sonucu ortaya çıkar^{13,35}.

Mipofoks, leptofos, metamidofos, triklorfon, triklorfon, EPN ve klorpirifos gibi bazı organik fosforlu insektisitler akut zehirlenme olarak veya uzun süreli maruziyet sonucu gecikmiş nöropati oluşturur^{38,39,57}. Semptomlar genelde akut maruziyetten 1-2 hafta sonra ortaya çıkar. Alt ekstremitelerde parastezi, halsizlik ve kramplar oluşur. Birkaç ay sürebilen yürüme bozukluğu gelişebilir ve daimi hasar oluşabilir. Organik fosforlu toksisitesi sonucu geçici veya kalıcı davranış bozuklukları görülebilir. Bunlar depresyon, huzursuzluk, konfüzyon ve duygusal değişikliklerdir. Semptomların çoğu bir yıl içinde ortadan kalkar⁴⁰.

2.8.2. Sistemik etkiler

2.8.2.1. Kardiyovasküler sistem

Kardiyak aritmiler, çeşitli derecede kalp bloğu ve kalp durması oluşabilir. Kardiyak ritim bozukluğunun oluşma sıklığı %5'den azdır. En sık olarak aritmi ve ventriküler repolarizasyon değişikliği görülür. Hipoksi taşikardiyi indükleyebilir. Hastalarda hipertansiyon ve taşikardi (nikotinic etki) oluşması bradikardi ve hipotansiyon (muskarinic etki) oluşmasından daha olasıdır.

2.8.2.2. Solunum Sistemi

Organik fosforlu bileşiklere maruz kalma sonucu solunum sisteminde bronkokonstrüksiyon ve trakeobronşiyal salgıda artış, solunum kaslarında başta stimülasyon daha sonra felç ve solunum merkezi yetmezliği gibi etkiler görülür. Organik fosforlu zehirlenmelerinde oluşan ani ölümün nedeni solunum yetmezliğinin neden olduğu asfeksidir.^{16,58}

2.8.2.3. Nörolojik Sistem

Merkezi Sinir Sistemi : Akut organik fosforlu pestisit zehirlenmesi sonucu çeşitli nörolojik etkiler meydana gelebilir. Merkezi sinir sistemi belirtileri zehirlenmenin şiddetine bağlıdır ve davranış değişikliği, uyku düzensizliği, konuşma zorluğu, tremor, konvülsiyon, hipotermi, solunum ve dolaşım yetmezliğini içerir. Kan kolinesterazların önemli miktarda inhibe edilmesiyle uyumlu ortaya çıkan merkezi sinir sisteminin erken belirti ve bulguları ise depresyon, anksiyeti, baş ağrısı, baş dönmesi, uykusuzluk ve duygusal değişim gibi etkilerdir.⁴⁴⁻⁴⁶

Periferik Sinir Sistemi : Organik fosforlu zehirlenmesi sonucu periferik nöropati oluşumu pestisit özelliği ile alınan doza bağlıdır tek doz veya kronik maruziyet sonucu oluşur. Mipafoks, leptofos, merfos, triklorfon, klorpirifos gibi az sayıda organik fosforlu pestisitler gecikmeli ve daimi nöropati oluşturabilir. Gecikmeli organik fosforlu sensorimotor nöropatisinin periferik olarak başlayıp, merkeze ilerleyen özellikleri, ayaklarda yanma, iğnelenme, zayıflık, ataksi olup bu semptomlar genellikle kollara da geçer. Çocuklarda bu etkiler yetişkinlerden daha azdır. Bu nöropatinin akut zehirlenme harici görülen diğer nöropatilerden ayırt edilmesi gerekir.^{39,40,44}

2.8.3.4. İskelet ve düz kas

Kas fasikülasyonu oluşur ve bunu aşırı zayıflık ve sonuçta felç takip eder. Düz kas ve bezlerdeki kolinerjik sinir uçlarının aşırı asetilkolin ile bloke olması iskelet kaslarına göre daha azdır. Bu nedenle, zehirlenmelerde bronkospazm, mide kaslarının kramp ve aşırı salgı kas zayıflığının oluşmasından sonra da uzun süre devam eder.¹³

2.8.3.5. Gastrointestinal sistem

Organik fosforuların ağız yoluyla alınmasında ilk olarak gastrointestinal belirtiler görülür ve bunların bazıları gastrointestinal bölgedeki lokal antikolinesteraz etkilerdir. Bulantı, kusma, karında kramplar, diare, tenesmus ve istek dışı defekasyon gelişebilir⁶.

2.8.3.6. Hepatik etkiler

Organik fosforlu bileşiklerle zehirlenmelerde serum kreatinin, kreatinin fosfokinaz ve serum alanin aminotransferaz yükselir. Laktak dehidrogenaz ve serum aspartat aminotransferaz aynı paralellikte değişiklik göstermez. Bununla birlikte geçici karaciğer hasarı oluşabilir⁶.

2.8.3.7. Üreme sistemi

İnsanlarda organik fosforlu bileşiklere maruz kalma sonucu oluşan üreme ve gelişim bozuklukları ile ilgili birçok deneysel çalışma vardır. Bu çalışmaların organik fosforlu bileşiklerin insan gelişimi ve üremesine olan toksisite riskini göstermemesine rağmen hamilelikte bu ajanlara karşı olan riskte artış vardır. Çünkü serum butirilkinesteraz aktivitesi genç hamilelerde daha da belirgin olmak üzere hamilelerde düşmektedir. Ayrıca serum kolinesterazın genetik olarak bulunmaması, benzodiyazepinler ve sezaryanda kullanılan suksametonyum gibi nöroaktif ilaçların periferik kolinesteraz düzeyini düşürdüğü bilinmektedir. Bu faktörlerden birinin mevcudiyeti hamilelikte organik fosforluya akut maruz kalındığında özel risk oluşturur. Deneysel hayvanlarıyla yapılan birçok çalışmada ise organik fosforlu insektisitlerin plasentayı geçtiği belirtilmektedir⁴⁷⁻⁴⁹.

2.8.3.8. Dermatolojik Sistem

Organik fosfatlı insektisitlere deri yolu ile maruz kalma sonucu lokal etkiler oluşmaktadır. Deri yoluyla maruziyetin lokal etkileri terleme ve faskülasyondur¹⁴.

2.8.3.9. Göz, kulak, buruna olan lokal etkiler

Organik fosforlu pestisitlerin toz, buhar ve aerosollerine maruz kalım sonucu gzn düz kaslarının akomodasyon spazmı ile miyosis ve bulanık görme gibi lokal etkiler oluşur¹. Soluma yolu ile maruz kalma solunum yolu düz kaslarında bronkokonstrüksiyon yanısıra salgı bezlerinin etkilenmesiyle burundan sulu akıntı ve hiperemi görülür.

2.9. Karsinojenite

Deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarda organik fosforlu bileşiklerin bir kısmının kanserojen potansiyelinin olmadığı gözlenmiştir. Fakat bazılarının örneğin (diklorvos, tetraklorvinfos) sıçan ve farelerde tümör oluşturduğu bilinmektedir. Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu (IARC)'nun yaptığı değerlendirmelere göre, insanda ve hayvanda kanserojen etki gösterdiğine dair yeterli delil bulunan organik fosforlu bileşik siklofosfamittir. Diklorvosun karsinojen etkisi ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. IARC'nin raporlarında hayvan çalışmalarında diklorvosun zofağiyal skuamoz hücreli tümöre, insanlarda ise lösemiye neden olduğu ile ilgili veriler bulunmaktadır⁴¹⁻⁴³.

2.10. Prognoz ve ölüm sebebi

Akut zehirlenmelerde ilk 4-6 saat çok kritiktir. Tedaviye başlandıktan sonra semptomların düzelmeye başlaması, eğer gerekli tedavi sürdürülürse hastanın iyileşeceğini gösterir. Tedavi edilmeyen ciddi vakalarda ölüm 24 saat içinde, yeterli tedavi görmeyenlerde ise 10 gün içinde görülür. Eğer anoksik beyin harabiyeti yoksa, genelde 10 gün içinde iyileşme görülür.

Organik fosforlu bileşiklerle zehirlenmelerde ölüm nedeni genellikle solunum yetmezliği ve bunun sonucunda oluşan anoksidir fakat orijini kardiyovasküler sistem olabilir. Solunum yetmezliğine; solunum yolları salgılarında aşırı artış, bronkokonstrüksiyon, solunum kasları zayıflığı ve solunum merkezinin yetmezliği olmak üzere dört faktör etken olur⁶.

2.11. Toksikolojik analizler

2.11.1. Kan testleri

Tarım ilacı zehirlenmesi şüphesi ile gelen hastanın hangi pestisitini aldığı eğer bilinmiyorsa alınan kan örneği toksikolojik olarak incelenir ve alınan pestisit miktarı tesbit edilebilir. Tedaviyi yönlendirmek için toksikolojik analizin yapılması gerekmektedir.

Organik fosfatlı ve karbamatlı insektisitler eritrosit Ach'ı ile plazma psödokolin esterazını etkilerler. Bu nedenle organik fosfatlı insektisit ile temasın laboratuvar çalışmaları ile anlaşılabilmesi için plazma psödokolinesteraz ve eritrosit asetilkolinesteraz aktivitesinin de ölçülmesi gerekmektedir.

Akut zehirlenmelerde ChE'in %50'den fazlasının inhibe olmasından sonra belirtiler görülür ve semptomların şiddeti kolinesteraz aktivitesindeki azalma derecesi ile paralellik gösterir. Kolinesteraz aktivitesi normalin %20- %50'si kadar olduğu zaman genellikle hafif zehirlenme, %10-%20'si kadar olduğu zaman ise genellikle orta şiddette zehirlenme oluşur. Çocuklar için normal ChE seviyeleri tesbit edilememiştir. Prematüre ve bebeklerde ChE aktivitesi yetişkinlerden daha düşüktür. Gebelik halinin ilk günlerinde de plazma ChE seviyeleri azalır (%17-46). Ancak üçüncü 3 aylık periyotta (7-8-9. aylarda) normal seviyelerine yükselir^{50,59}.

2.11.2. İdrar Testleri: Parathion, metilparathion, clorothion, dicapthion ve EPN gibi maddelerin hızlı bir şekilde atılan metaboliti p-nitrofenoldür. Bu madde temastan sonra 48 saat içinde idrarda tesbit edilebilir. İdrar tarama testleri söz konusu organik fosfatlı pestisitlerle ile teması gösteren testlerdir. Diklorvosun idrardaki metaboliti dimetilfosfat (DMP) tır. Düşük seviyedeki maruz kalma ve biyolojik takip için metabolitlerin ölçümü yararlıdır. Çizelge 2.6'da çeşitli organik fosforlu pestisitlerin idrardaki alkil fosfat metabolitleri verilmektedir⁵¹⁻⁵⁶.

Çizelge 2.6. Çeşitli organik fosforlu pestisitlerin idrardaki alkil fosfat metabolitleri

Pestisit	Alkil fosfat
Azinfos-metil	DMP, DMTP, DMDTP
Demeton	DEP, DETP
Diazinon	DEP,DETP
Diklorvos	DMP
Fenitroion	DMTP
Fosfamidon	DMP
Klorpirifos	DEP, DETP
Malation	DMDTP, DMTP,DMP
Metidation	DMDTP, DMTP
Monokrotofos	DMP
Paration	DEP, DETP
Paration-metil	DMP, DMTP

DMP (Dimetilfosfat)

DMDTP (Dimetilfosfoditionat)

DEP (Dietilfosfat)

DETP (Dietilfosforotionat)

DMTP (Dimetilfosforotionat)

DEDTP (Dietilfosforoditionat)

2.11. Tedavi

Organik fosforlu pestisitlerle oluşan zehirlenmelerin başarılı bir şekilde tedavisi için öncelikle toksikolojik analizle alınan pestisit ne olduğu ve kanında ne kadar etken madde olduğunun tesbit edilmesi gerekir. Ayrıca klinisyenin organik fosforlu pestisit mekanizmasını iyi bilmesi, ilk yardımın uygun bir şekilde yapılması, organik fosforlu pestisit emiliminin engellenmesi, atropin, PAM ve diazepam'ın yeterli dozlarda kullanılması gerekir.^{1,4}

Akut organik fosforlu pestisit zehirlenmesinin ilk yardım ve tedavisinde alınacak önlemler dört ana başlık altında toplanabilir:

Stabilizasyon: Stabilizasyonu sağlamak tedavinin ilk basamağıdır. Acil hayatı tehlike semptomları genellikle solunum problemleridir. Solunum problemleri, solunum kaslarının zayıflaması, merkezi solunum depresyonu, bronkospazm, bronşial akıntılar ve akciğer ödeminden kaynaklanır. Bunların hepsi hipoksiye sebep olur. Yeterli oksijenasyonu muhafaza edebilmesi için solunuma yardımcı teknikler ve hatta endotrakial entübasyon gerekli olabilir. Ayrıca arterial kan gazlarının takibi de gereklidir.

Dekontaminasyon: Dekontaminasyonu sağlamak tedavinin ikinci basamağını oluşturur. Organik fosforlu insektisitler deriden de emildiği için insektisit bulaşmış bütün elbiseler çıkarılmalıdır. Pestisit ile bulaşmış deri önce su ile daha sonra sabun ve sodyumbikarbonat çözeltisi ile yıkanmalıdır.

Antidot tedavisi: Birbirini tamamlayan ve farklı etkiye sahip iki ilacın verilmesi ile yapılır.

Atropin farmakolojik bir antidottur. Aşırı bronşiyal salgılar, tükürük salgısı, terleme, iştahsızlık, mide bulantısı, epigastrik ve göğüs gerginliği, karın krampları, kusma ve bradikardi gibi rahatsızlıkları hafifletmek suretiyle organik fosforlu insektisit zehirlenmesinin muskarinik ve MSS etkilerini antogonize eder. Zehirlenme nedeni anlaşılır anlaşılmaz derhal atropin tedavisine başlanmalıdır. Ancak atropin şiddetli zehirlenme vakalarında kas zayıflığına karşı etkili değildir. Atropin dozunun ayarlanması zehirlenmenin şiddetine göre olur. 2 mg atropin sülfat her 15-30 dakika aralıklarla ve kişide atropinizasyon belirtileri (ağız kuruması) görülünceye kadar verilir. Ağır vakalarda günlük doz 100 mg ve fazlasına kadar arttırılır.

Enzimi rejenere etmek üzere uygulanan oksim tedavisi kesinlikle atropinden sonra yapılmalıdır. Oksim tedavisi zehir alınımından 24 saat sonra yapılırsa değeri olmaz. Çünkü enzime bağlı alkil fosfatın ester gruplarından biri zamanla enzimatik hidrolize uğrayarak bir alkol ünitesi kopar ve asidik P-OH grubu oluşur. Alkil fosfatlanmış enzimdeki bu değişikliğe yaşlanma denilmekte ve yaşlanmış alkil fosfat grubuna oksim molekülünün nükleofilik bağlanması mümkün olmadığı için enzim rejenere edilememektedir.

Antidot tedavisinin yanısıra, antikolinerjik ilaçlarla yapılan semptomatik tedavi son derece önemlidir. Tedavi prensipleri, oksim ve antikolinerjik tedavisi sinerjik etkileri nedeniyle birlikte yapılmalıdır. Organik fosforlu pestisit zehirlenmesinin sınıflandırılması ve plazma psödokolinesteraz aktivite ölçümü ile izlenen tedavisi Çizelge 2.7.'de verilmiştir³⁴.

Çizelge 2. 7. Organik Fosforlu Pestisit zehirlenmesinin sınıflandırılması ve plazma psödokolin esteraz aktivite ölçümü ile izlenen tedavisi

Zehir Sınıfı	Enzim Aktivitesi	TEDAVİ	
		Atropin	Pralidoksim
Hafif	20-50	1.0 mg s.c.	-
Orta	10-20	Her 20-30 dak.'da 1.0 mg i.v. tükrük salgısı ve terleme durana ve hafif kızamığa kadar,	20-30 dak.'da 1.0 g i.v.
Şiddetli	10	Her 20-30 dak.'da 5.0 mg i.v. tükrük salgısı ve terleme durana kadar verilir.	20-30 dak.'da 1.0 g i.v. iyileşme olmazsa tekrarlanır, iyileşme yine olmazsa 0.5 g/h i.v. verilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada ülkemizde en çok zehirlenmelere neden olan organik fosforlu pestisit diklorvos 40 adet erkek wistar albino cinsi sıçana farklı konsantrasyonlarda gavaj yöntemi ile verildi ve postmortem kan örnekleri alındı. Hayvan çalışması için Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi Etik Kurulundan onay alınmıştır. Toplanan kan örneklerinin Anabilim Dalımız Adli Toksikoloji Laboratuvarında bulunan Gaz Kromatografi cihazı ile analizleri yapıldı. Bu çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi bütçesinden SBE 2002 YL20 no'lu proje ile parasal destek alındı.

3.1. Kan örnekleri

40 Adet wistar albino cinsi 250 gr. ağırlığında erkek sıçandan alınan kan örnekleri çalışıldı. Enjektörlerle alınan 5 cc venöz kan düz cam tüplere aktarılarak herbiri numaralandırıldı.

3.2. Deneylede kullanılan malzemeler

3.2.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Diklorvos standardı (Dr. Ehrenstorfer, reference standarts)

Hekzan (Merck)

Etil asetat (Merck)

Metanol (Merck)

C₁₈ ekstraksiyon kartuşu (500 mg/ 3ml Agilent)

Sodyum klorür (Merck)

3.2.2. Kullanılan araç ve gereçler

Tüpler (10 ml'lik)

Gaz Kromatografisi (Perkin Elmer AutoSystem XL)

Dedektör NPD (Azot Fosfor Dedektör)

Kapiler Kolon (SGE BP 20 – polietilen glikol, 30m x 0.32 mm)

Hassas terazi (Mettler- Toledo)

Vorteks (Elektromag M16)

Santrifüj (5500 devir/dak. – Hettich Universal 30F)

Katı- sıvı ekstraksiyon manifoldu (Agilent)

Vakum Rotary Evaporatör (Heidolph)

Şırınga (Hamilton)

Helyum gazı (%99.99 yüksek saflıkta)

Hidrojen gazı (%99.99 yüksek saflıkta)

Kuru hava

3.2.3. Çözücü sistemi

hekzan – etil asetat (75 : 25, v/v)

3.3. Gaz Kromatografi ve Çalışma Şartları

Perkin Elmer (autosystem) marka Gaz Kromatografi ve azot fosfor dedektör (NPD) ile çalışıldı.

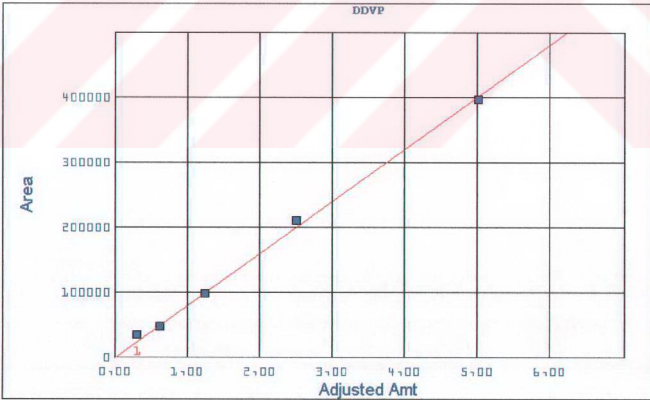
- Kolon : BP 20 - 30mx0.32mm
- Taşıyıcı gaz : Helyum 1 ml / dak.
- Fırın sıcaklığı : 50 °C
- Dedektör sıcaklığı : 300 °C
- Enjeksiyon sıcaklığı : 250 °C
- Enjeksiyon hacmi : 1 µl



Şekil 3.1. Gaz Kromatografi Cihazı

3.4. Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması

Kalibrasyon eğrisi için 100 ppm'lik stok diklorvos çözeltisinden 10 ppm'lik çalışma çözeltisi hazırlanarak farklı konsantrasyonlarda 5 µg/ml, 2.5 µg/ml, 1.25 µg/ml, 0.625 µg/ml, 0.3125 µg/ml diklorvos örnekleri ile kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Kalibrasyon grafiği Şekil 3.2'de verilmiştir. Korelasyon katsayısı 0.9973' dür.



Şekil 3.2. Diklorvosun Kalibrasyon Eğrisi

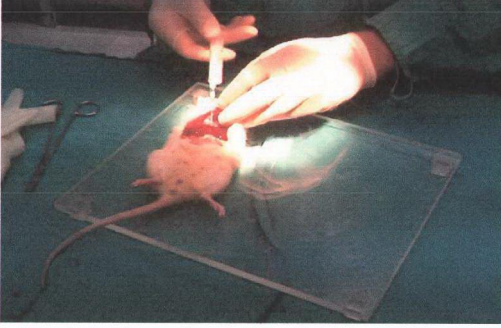
3.5. Geri Kazanım (Recovery) çalışmaları

Organofosfatlı pestisitlerin serumdan ekstraksiyonunda geri kazanım oranları çok önemlidir. İki çeşit ekstraksiyon yöntemi kullanılmaktadır. Katı- sıvı (SPE) ve sıvı- sıvı (LLE) ekstraksiyon yöntemi. SPE yöntemi LLE metoduna göre yüksek geri kazanım oranı ile son yıllarda tercih edilen ekstraksiyon yöntemidir. Geri kazanım oranı, içerisinde analit bulunan bir örneğin saflaştırma sonrasında, istenmeyen bileşenlerin uzaklaştırmış olduğu sıvıdaki analitin değişmeme oranıdır. Bu oran hangi metotta fazla ise o tercih edilmektedir. Çünkü ekstraksiyon sırasında aranan madde kaybedilirse kantitatif analizlerde saptanacak miktar azaltılmış olacaktır. LLE'ye göre alternatif olan SPE yönteminde daha az miktarda örnek yeterli olabilmekte, birçok örnek aynı anda analiz edilmekte, daha az kimyasal harcanmakta ve yüksek kazanımlar elde edilmektedir.⁶¹⁻⁶³

Organik fosfor pestisit içermediği bilinen kan örneklerine (1ml), 10 ppm 'lik diklorvos çalışma çözeltilisinden 1 µl eklenerek geri kazanım çalışması 5'er deneyeyle yapılmıştır. Deneysel çalışma sonucu geri kazanım SPE'de %30.14 ve LLE'de %75.67 olarak tesbit edilmiştir.

3.6. Serumların hazırlanması

40 adet wistar albino cinsi erkek sıçana 225 mg/kg, 110 mg/kg, 55 mg/kg ve 20 mg/kg miktarlarında diklorvos gavaj yöntemi ile verilerek postmortem kan örnekleri düz cam tüpe alındı. Blank çalışma için, bir adet sıçan ise diklorvos verilmeden servikal dislokasyonla öldürülerek kanı alındı. Kan örnekleri 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serum kısmının ayrılması sağlandı. Serum başka bir enjektör yardımıyla alınarak başka tüplere aktarıldı. Örnek serumlar analize kadar + 4 °C'de saklandı.



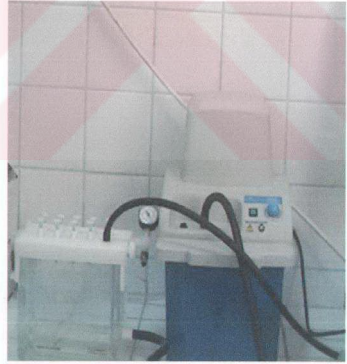
Şekil 3.3. Sıçanlardan örneklerin alınması

3.7. Ekstraksiyon

1 ml serum a 1 ml doymuş NaCl solüsyonu ve 3 ml hekzan – etil asetat eklenerek vortekste 10 dakika karıştırıldı. Daha sonra 3500 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi. Organik faz evaporatör balonuna alınarak 40 °C 'de vakum altında kuruluğa gidildi. Örnek 1 ml hekzanda çözülerek 1µl GC 'ye verildi. ⁶⁴⁻⁶⁹



Şekil 3.4. Rotary evaporatör ünitesi



Şekil 3.5. Katı-sıvı ekstraksiyon manifoldu

4. BULGULAR

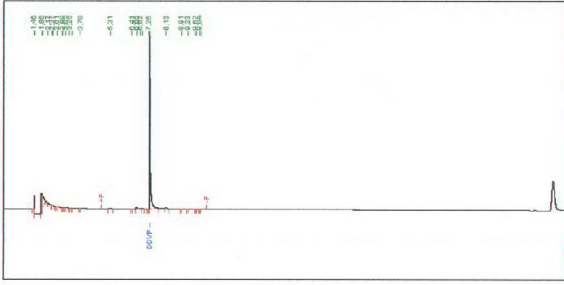
40 Adet wistar albino cinsi erkek sıçandan alınan kan örneklerinin Gaz Kromatografi cihazı ile saptanan diklorvos miktarları Çizelge 4.1. ve Çizelge 4.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. 110 mg/kg dozunda DDVP verilen sıçanların kanının postmortem değişimi.

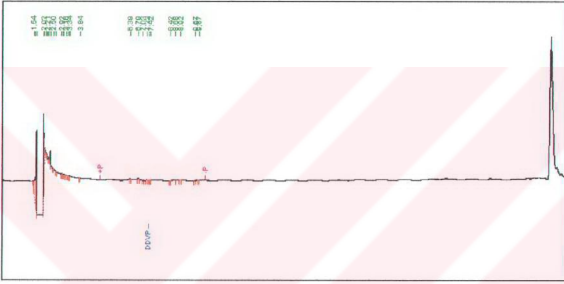
Sıçan sayısı	Kandaki DDVP miktarı (ölümden hemen sonra) mg/L	Kandaki DDVP miktarı (0.5 saat sonra) mg / L
1	1.50	1.03
2	1.71	1.13
3	1.70	1.04
4	1.55	1.15
5	1.63	1.22
6	1.54	1.17
7	1.70	1.23
8	1.67	1.08
9	1.63	1.11
10	1.57	1.19

Çizelge 4.2. DDVP'nin sıçan kanındaki miktarları.

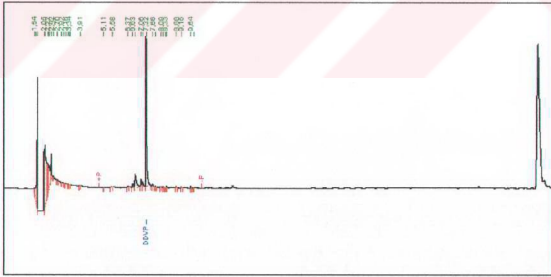
Sıçanlara verilen DDVP miktarı	Sıçan sayısı	Kandaki DDVP miktarı (mg/L)
225 mg/kg	1	2.60
	2	3.20
	3	4.97
	4	3.26
	5	2.32
	6	2.41
	7	3.20
	8	2.15
	9	2.27
	10	3.34
110 mg/kg	1	1.50
	2	1.71
	3	1.70
	4	1.55
	5	1.63
	6	1.54
	7	1.70
	8	1.67
	9	1.63
	10	1.57
55 mg/kg	1	0.2118
	2	0.1446
	3	0.2413
	4	0.3024
	5	0.1057
	6	0.2323
	7	0.1104
	8	0.2113
	9	0.1043
	10	0.3425
20 mg/kg	1	0.0369
	2	0.0405
	3	0.0409
	4	0.0273
	5	0.0213
	6	0.0270
	7	0.0312
	8	0.0437
	9	0.0163
	10	0.0254



Şekil 4.1. Gaz Kromatografi (NPD) cihazında 3 µg/ml DDVP piki.



Şekil 4.2. DDVP bulunmayan blank sıçan kam piki.



Şekil 4.3. 110 mg/kg DDVP verilen sıçandan alınan kan örneğindeki DDVP piki.

5. TARTIŞMA

Zehirlenmeye neden olan maddelerin toksikolojik analizleri, klinik tanıya yardımcı olmak, zehirlenen kişilerin tedavisini düzenleme, epidemiyolojik çalışmalar sırasında maddenin varlığının ve düzeyininin kanıtlanması, yasal durumlarda olayla ilgili sorulara yanıt verme ve bu maddeleri, metabolik ve farmokokinetik yönden araştırmak amacıyla yapılır.

Zehirlenen kişilerin tedavisinin yönlendirilmesi ve sağlıklı olarak sürdürülmesi için, toksikolojik analizlerde olduğu gibi, maddelerin kullanıp kullanılmadığının, ölümcül düzeye ulaşıp ulaşılmadığının araştırılması açısından da önem taşımaktadır.

Kaza, intihar ve cinayet olarak gerçekleşen zehirlenme olgusuna tanı koyabilmek için ilk koşul mevcut tablonun bir entoksikasyona bağlı olabileceğinin düşünülmesidir. Tam bir sağlık halinde bulunduğu bilinen herhangi bir kişide, aniden ortaya çıkan intoksikasyon bulguları akut bir zehirlenme olgusunu işaret edebilmektedir.

Geniş tarım alanları olan ülkemizde teknolojiye paralel olarak tüketilen tarım ilacı miktarı artmakta, buna bağlı olarak tarım ilaçları ile akut zehirlenme sonucu ölüm olaylarında da artış meydana gelmektedir. Ülkemizde tarım ilaçları ile zehirlenmelerin fazla olması, Türkiye’de diğer ülkelere nazaran daha fazla ilaç kullanıp kullanılmadığı sorusunu akla getirebilir. Halen birim alana isabet eden tarım ilacı miktarı, Almanya’da bizden 6 kat, İsviçre’de 10 kat, Amerika Birleşik Devletleri ve Japonya’da 15 kat fazladır.⁷ Dünya Sağlık Örgütü’nün 1990 yılı verilerine göre dünyada 3 milyona yakın pestisit entoksikasyonu meydana gelmekte ve bunun 200.000’i ölümlerle sonuçlanmaktadır.¹

Çukurova bölgesinde yoğun olarak tarım yapılması ve kırsal alandaki nüfusun hemen hepsinin tarım sektöründe çalışması, Türkiye genelinde tüketilen tarım ilaçlarının %70 gibi bir bölümünün bu yörede tüketilmesi pestisitlerin toksik etkileriyle karşılaşabilecek insan sayısını arttırmaktadır.³ Nitekim Adana ilinde adli vaka olarak değerlendirilen ve adli otopsi yapılan kişilerin ölüm nedenleri arasında fatal tarım ilacı zehirlenmeleri önemli bir yer tutmaktadır. Vaka sayılarının akut zehirlenmeleri gösterdiği düşünüldüğünde, tarım ilaçlarının yaygın olarak bilinçsizce kullanıldığı ülkemizde kronik maruz kalmanın boyutları düşündürücüdür.

Salaçın ve arkadaşları 1983-1989 yılları arasında toplam 505 entoksikasyon olgusunun 343'ünün pestisit entoksikasyonu olduğunu saptamışlardır. Olguların %60'ı bu pestisitleri intihar amacıyla almıştır. Bu pestisitlerden organik fosforlu pestisitler ilk sırayı almaktadır³.

Bu bilgiler ışığında çalışmamızda akut organik fosforlu pestisit entoksikasyonları seçilmiştir. Adli Tıp Kurumu, Zehir Danışma Merkezleri ve laboratuvarımıza gelen organik fosforlu pestisit zehirlenmesi olgularında diklorvos en sık rastlanılan organik fosforlu pestisit olduğu için seçilmiştir.

Dünya Sağlık Örgütü'ü raporlarına göre diklorvos 1.sınıf yüksek tehlikeli pestisit grubuna girmektedir ve diklorvos triklorfon pestisitinin de ana metabolitidir. Ülkemizde triklorfon tüketimi 16.4 (1987) tondur ve buna bağlı zehirlenme olayları meydana gelmektedir⁶. Triklorfon zehirlenmelerinde aranması gereken metabolit diklorvosdur. Diklorvosun kolinesteraz inhibitörü olarak aktivitesi triklorfondan en az 100 kat fazladır. Diklorvosun metabolitleri diklorvos kadar toksik değildir. Triklorfon zehirlenmelerinde örnek toplama, santrifüjleme ve pipetleme sırasında triklorfon konsantrasyonu plazmada %20 azalırken, aynı periyotta diklorvos konsantrasyonu 15 kat artmaktadır⁷⁰. Dolayısıyla triklorfon zehirlenmelerinde de aranması gereken diklorvosdur.

Çalışmamızın ilk ve en önemli bölümünü ekstraksiyon kısmı oluşturmaktadır. Organik fosforlu pestisitlerin serumdan ekstraksiyonunda geri kazanım oranları çok önemlidir. Bununla ilgili literatürde birçok çalışma yapılmıştır. SPE yöntemi yurtdışında ki birçok merkezde kullanılmaktadır. SPE yönteminin klasik sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemleri ile karşılaştırıldığında aşağıdaki üstünlükleri bulunmaktadır^{61-63,71,72}

- Solvent (çözücü) tüketimi ve kimyasal atık daha azdır.
- Kromatografik analiz için hazırlık süresi daha azdır.
- Verim daha yüksektir.
- Yöntemin kesinliği daha yüksektir.
- Çözücü/numune ile birebir temas halinde olduğu için daha kolay ve güvenilir bir yöntemdir.

Çalışmamızda iki çeşit ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Diklorvos LLE 'da daha yüksek geri kazanım sağlamıştır. Çünkü diklorvos suda çözünür, bu farklılık

SPE'da su ile yıkama süresince madde kaybı şeklinde açıklanabilir. Futagami et. al.'nın yaptığı çalışmada akut organofosfatlı pestisit zehirlenmesi insan serumunda bakılmıştır. Burada diklorvos'un geri kazanım oranları SPE'de %27.6, LLE'de %63.8 olarak bulunmuştur⁷³. Bizim çalışmamızda da SPE'de %30.14 ve LLE'de %75.67 olarak bulunmuştur. Diklorvos için en yüksek ekstraksiyon oranı sıvı-sıvı ekstraksiyondur. Dolayısıyla bütün organik fosforlu pestisitler için aynı ekstraksiyon yöntemini kullanmak çalışmalarımız için uygun olmamaktadır. Bu yüzden her organik fosforlu pestisit için en yüksek verimi alabileceğimiz ekstraksiyon yöntemi seçilmelidir.

Toksikolojik analizleri, zehirlenme olgularında kliniğe en kısa sürede ve adli olgularda adalete en doğru yanıtın verilmesi olarak iki ayrı boyutta incelememiz gerekir. Klinik olgularda toksikolojik analizlerle zehirli etken madde taramasının yapılması, toksik maddelerin etkisi altında olup olmadıklarının incelenmesi ve tedavilerinin yapılması gerekmektedir. Adli olgularda tarım ilacı entoksikasyonlarında postmortem saptanabilecek makroskopik ve histopatolojik bulgular nonspesifiktir. Bu yüzden otopsi sırasında alınacak olan uygun sıvı (kan, idrar, mide içeriği), doku ve organların (karaciğer, böbrekler, dalak, kalp, beyin, cilt altı yağ dokusu, akciğerler) toksikolojik analiz için alınması gerekmektedir.

Biyolojik materyallerde akut zehirlenmelere neden olabilecek organik fosforlu pestisitlerin analizi uygun kantitatif yöntemler kullanılarak yapılabilmektedir. Çizelge 5.1'de farklı cihaz ve laboratuvar tekniklerinin duyarlılık ve hızlılık yönünden karşılaştırılması yapılmıştır.⁷⁴⁻⁷⁹

Çizelge 5.1. Farklı laboratuvar tekniklerinin spesifiklik, hassasiyet ve hızlılık yönünden karşılaştırılmaları

Laboratuvar tekniği	Spesifiklik	Hassasiyet	Hız
Spektrofotometre	+	++	+++
İncetabaka Kromatografisi	++	++	++
Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi	+++	+++	+
Gaz Kromatografi	+++	+++	+
Gaz Kromatografi/Kütle Spektrometresi	++++	++++	+
İmmünolojik	+++	+++	++++

Deneysel çalışmamızda organik fosfatlı pestisitler için özel olarak tasarlanmış NPD dedektörlü GC cihazı kullanılmıştır. GC cihazı ile diklorvos için çok düşük dedeksiyon limiti elde edilebilmektedir. Diklorvosun en düşük dedeksiyon limiti 10 µg/L olarak belirlenmiştir.

Ülkemizde organik fosforlu pestisitlerle zehirlenmelerde intihar olayları ilk sırayı aldığı için yüksek doz pestisit ile zehirlenmelerinde etken maddenin organ ve dokularda dağılımının incelenmesi önem taşımaktadır. Bu yüzden çalışmamızda sıçanlara diklorvos oral yoldan verilmiş ve postmortem kan örnekleri alınmıştır. Ölümünden sonra pestisitler vücudun farklı yerlerinde farklı konsantrasyonlarda dağılırlar. Bu yüzden doğru yorumu yapmak zordur. Diklorvos postmortem difüzyon ile birlikte organlara dağılır. Shimizu et al. DDVP'nin postmortem doku dağılımı ile ilgili yaptığı çalışmada, diklorvos en yüksek miktarda kalp ve dalakta, en düşük miktarda ise karaciğer ve serumda bulmuşlardır³⁵. Postmortem kan örneklerinin alınırken dikkat edilmesi gereken bazı noktalar vardır. Bunlar;

- Analiz sonuçları örneğin alındığı yere göre değişiklik göstermektedir.
- Ölümünden sonraki zaman çok önemlidir.
- Kantitatif analiz için karın boşluğundan örnek alınması uygun değildir.
- Mide içeriği yardımcı örnektir.
- Kontaminasyona dikkat edilmesi gerekmektedir.
- Numune hacmi yeterli miktarda alınmalıdır.
- Örnekler uygun koruyucu içinde, uygun sıcaklıkta saklanmalı ve taşınmalıdır⁸⁰.

Çalışmamızda sıçanlardan kan örnekleri vena jugularisden alınmıştır. İdrar ise alınamamıştır. İdrar örnekleri metabolitlerin aranmasında iyi sonuçlar vermektedir. Diklorvosun idrardaki metaboliti dimetilfosfattır. Metabolitler düşük maruz kalımlarda iyi bir indikatördür. Özellikle mesleki maruz kalımlarda biyolojik izlemede iyi sonuçlar verir^{81,82}.

Çalışmamızda 250 gr. ağırlığındaki sıçanlara 110 mg/kg dozunda diklorvos verilerek kan örneklerindeki diklorvos konsantrasyonu bulunmuştur (Çizelge 4.1.). İlk aşamada kanlar sıçanların ölümünden hemen sonra alınmış, ikinci aşamada ise ölümünden yarım saat sonra alınmış, bu aşamadan sonra kan alınamamıştır. Çünkü

herbir ekstraksiyon için en az 1 ml serum gerekmektedir. Ayrıca postmortem bekleme süresi arttıkça kan dokulara dağılmaktadır.

Çalışmamızda 4 farklı konsantrasyonda (225, 110, 55, 20 mg/kg) diklorvos sıçanlara oral olarak verilmiş ve postmortem kan örneklerindeki diklorvos miktarları hesaplanmıştır. Diklorvosun LD₅₀ değeri 32-108 mg/kg'dır. Sıçanlara verilen diklorvos bu aralıktadır. Sıçanlara 225, 110 ve 55 mg/kg verildiğinde 3 dakika sonra, 20 mg/kg diklorvos verildiğinde 15 dakika sonra ölmüşlerdir. Literatürde çalışmamıza benzer bir çalışma olarak Jing et al. yaptığı çalışmada tavşanlarda tetraminin (rodentisit) kan ve dokularda dağılımını incelemişler²⁶.

Bu çalışmada, postmortem sıçan kan örnekleri bölümümüzde bulunan ve rutin olarak hizmet veren Adli Toksikoloji Laboratuvarında Gaz Kromatografi cihazı ile çalışılmıştır. Organik fosforlu pestisit olan diklorvosla meydana gelen akut entoksikasyonların klinik ve adli olgularda belirlenmesi çalışmamızda kullanılan yöntemin uygulanması ile mümkün olacaktır.

Bölgemizde akut ve kronik pestisit entoksikasyonları ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır. Çalışmamız diklorvos ve diğer organofosfatlı pestisitlerin neden olduğu entoksikasyonların belirlenmesi için bir ön çalışma raporudur. Bölümümüz Adli Toksikoloji Laboratuvarımızda kurulması planlanan Gaz Kromatografi/Kütle Spektrometresi cihazı ile geniş serilerde daha hassas çalışmalar yapmak mümkün olacaktır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Bu çalışmada 40 adet wistar albino cinsi sıçana gavaj yöntemi ile farklı miktarlarda diklorvos (225, 110, 55, 20 mg/kg) verilerek postmortem kan örnekleri kandaki diklorvos miktarının tesbiti amacıyla çalışıldı.
2. Diklorvos için iki farklı ekstraksiyon yöntemi kullanılmış ve en yüksek geri kazanımı sağlayan (%75.67) ekstraksiyon yöntemi olan LLE seçilmiştir.
3. Postmortem sıçan kan örneklerinin Gaz Kromatografi (NPD) cihazı ile analizleri yapılmıştır.
4. Analizler sonucunda kandaki diklorvos miktarları, sıçanlara 225 mg/kg diklorvos verildiğinde en yüksek değer 4.97, en düşük değer 2.15 ve ortalama değer 2.97 mg/L, 110 mg/kg diklorvos verildiğinde en yüksek değer 1.71, en düşük değer 1.50 ve ortalama değer 1.62 mg/L, 55 mg/kg diklorvos verildiğinde en yüksek değer 0.3425, en düşük değer 0.1043 ve ortalama değer 0.2006 mg/L, 20 mg/kg diklorvos verildiğinde en yüksek değer 0.0437, en düşük değer 0.0163 ve ortalama değer 0.0310 mg/L olarak bulunmuştur.
5. Postmortem örneklerin rutin analizlerinde vücut sıvı ve dokuları birlikte çalışılmalıdır. Sadece kan çalışılması yeterli olmamaktadır.
6. Akut pestisit entoksikasyonlarında klinikte kesin tanı ve tedavi ancak sorumlu maddenin kendisinin veya metabolitinin tesbiti ile mümkün olacaktır.
7. Adli olgularda bireyin ölüm nedeni ve mekanizmasının anlaşılması ancak uygun teknik ve yöntemlerin kullanılması ile mümkün olacaktır.
8. Çukurova Bölgesinde akut ve kronik pestisit entoksikasyonları ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır.
9. Bu çalışma bölgemiz için ön deneysel araştırma raporu şeklinde olup, geniş serilerde çalışmalar ile Adli Toksikoloji uygulamalarında anlamlı yerini alacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. **Klassen CD, Amdur MO, Doull J.** *Casarett and Doull's Toxicology: Basic Science of Poisons*, 6th Edition, McGraw-Hill International Editions, New York, 2001: 763-784.
2. **Çetin BH.** Organik fosfatlı pestisitlerin postmortem materyalden identifikasyonu. Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul, 1998.
3. **Salaçin S, Şen F, Alper B.** Adana'da 1983-1989 Yılları Arasında Görülen Akut Fatal Pestisit Zehirlenmesi Olgularının Değerlendirilmesi. *Adli Tıp Dergisi*, 1993; 8:37-43.
4. **Vural N.** *Toksikoloji*. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 1996;73:342-373.
5. **Malley M.** Clinical evaluation of pesticide exposure and poisonings. *The Lancet*, 1997; 349: 1161-1166.
6. **WHO.** Organophosphorus Pesticides. Erişim: (<http://www.who.org>) Erişim tarihi: 13.04.2003
7. **Öztürk S.** *Tarım ilaçları*. İstanbul: Hasad Yayıncılık, 1990 ; 281-282.
8. **TİSİT** (Tarım ilaçları Sanayici İthalatçı ve Temsilcileri Derneği), Zirai mücadele ilaçları, Yenilik basımevi, İstanbul,1996.
9. **WHO.** Dichlorvos. Environmental Health Criteria No:79. Erişim: (<http://www.who.org>) Erişim tarihi:13.04.2003
10. **Merwe IS.** Biological monitoring programme for workers exposed to organophosphate and carbamate pesticides. *Int Arch Occup Environ Health*, 1999; 72: 66-67.
11. **Barnes JM.** Problems in monitoring overexposure among spray workers in fruit orchards chronically exposed to diluted organophosphate pesticides. *Int Arch Occup Environ Health*, 1999; 72: 68-74.
12. **Goodman LS, Gilman AG.** *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9th Ed., New York, Macmillan Publishing Co.,1998.
13. **Garfitt SJ, Jones K, Mason HJ, Cocker J.** Exposure to the organophosphate diazinon: data from a human volunteer study with oral and dermal doses. *Toxicology Letters*, 2002; 134 : 105-113.
14. **Garfitt SJ, Jones K, Mason HJ, Cocker J.** Oral and dermal exposure to propetamphos: a human volunteer study. *Toxicology Letters*, 2002; 134 : 115-118.
15. **Dodd E.** Respiratory tract absorption of anticholinesterases. *Clinical and Experimental Toxicology of Organophosphates and Carbamates*, 1992; 334-338.
16. **He F, Chen S, Tang X, Gan W, Tao B, Wen B.** Biological monitoring of combined exposure to organophosphates and pyrethroids. *Toxicology Letters*, 2002; 134 : 119-124.
17. **Scharf J, Wiesiolek R, Bachmann K.** Pesticides in atmosphere. *Fresenius J Anal Chem*, 1992; 342: 813-816.
18. **Peiris JB, Fernando R, Abrew K.** Respiratory failure from severe organophosphate toxicity due to absorption through the skin. *Forensic Sci Int*, 1988; 36: 251-253.
19. **Jadhav RK, Sharma VK, Rao GJ, Saraf AK, Chandra H.** Distribution of Malathion in Body Tissues and Fluids. *Forensic Sci Int*, 1992; 52: 223-229.

20. Akgür SA, Öztürk P, Yemişçigil A, Ege B. Postmortem Distribution Between Fat, Liver and Blood Following methamidophos suicides. *Ulusal Toksikoloji ve Klinik Toksikoloji Sempozyumu*, İzmir, 2003.
21. Akgür SA, Öztürk P, Ege B. Metil-paration'un Postmortem Dağılımı: Bir olgu sunumu. *Adli Tıp Dergisi*, 2001; 15(3) : 33-36.
22. Kintz P, Jamey C, Doray S, Ludes B. Acute fatal poisoning with dichlorophen. *Int J Legal Med*, 1997; 110: 95-96.
23. Liu J, Suzuki O. Conditions of solid-phase extraction for the mixture of organophosphates and synthetic pyrethroids in human body fluids. *Forensic Sci Int*, 1999; 99: 159-161.
24. Zivot U, Castorena JL, Garriott J. A case of fatal ingestion of malathion. *The Am J Forensic Med and Patho*, 1993; 14: 51-53.
25. Rakoczy J. Organophosphate Carbamate Paraquat Poisonings. *31 st International Meeting of the International Association of Forensic Toxicologists*. Germany, 1993, 415-418.
26. Jing S, Shan-yu Z, Zhao JZ, Zhou HZ. Determination of Tetramine in Postmortem Specimens by GC-NPD. *J Anal Toxicol*, 1994; 18: 275-277.
27. Blair D, Hoadley EC, Hutson DH. The distribution of dichlorvos in the tissues of mammals after its inhalation or intravenous administration. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 1975; 31:243-253.
28. Vale JA. Toxicokinetic and toxicodynamic aspects of organophosphorus (OP) insecticide poisoning. *Toxicology Letters*, 1998;102-103:649-652.
29. Klettle KL, Levine B, Dreka C, Smith ML, Goldberger BA. Cholinesterase Activity in Postmortem Blood As a Screening test for Organophosphate/ Chemical Weapon Exposure. *Journal of Forensic Sciences*, 1993; 38: 950-955.
30. Marrs TC. Organophosphate Poisoning. *Pharmacol. Ther.* 1993;58:51-66.
31. Marques EGP, Oliveira MMF, Monsanto PV, Proenca P, Castanheria F, Castanheira AM, Vieira DN. Parathion and acute intoxication: The importance of toxicological analytic tests. XXXVII. TIAFT Meeting. Krakow, 1999.
32. Ellenhorn MJ, Schonwald S, Odog G, Wasserberger J. *Ellenhorn's Medical Toxicology: Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*. 2th Ed., Pennsylvania, Willams and Wilkins, 1997.
33. Namba T, Nolte C, Jackrel J, Grob D. Poisoning Due to Organophosphate Insecticides, Acute and Chronic Manifestations, *The American Journal of Medicine*, 1972; 50: 475-492.
34. Worting CR, Hance RJ. *The Pesticide Manual*. British crop protection council, .9th Ed, 1991; 259-260.
35. Shimizu K, Shiono H, Fukushima T, Sasaki M, Akutsu H, Sakata M. Tissue Distribution of DDVP after fatal ingestion. *Forensic Sci Int*, 1996; 83: 61-66.
36. Besbelli N. Organik fosforlu insektisitlere mesleki ve indirekt maruz kalmanın toksikolojik yönden izlenmesi. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1993.
37. Karademir M, Ertürk F, Koçak R. Two Cases of Organophosphate Poisoning with Development of Intermediate Syndrome. *Human & Experimental Toxicology*, 1990; 9: 187-189.
38. Senanayake N, Karalliedde L. Neurotoxic Effects of Organophosphorus Insecticides. *Journal of Medicine*, 1987; 26:761-763.

39. **Abbas R, Hayton WL.** Gas Chromatographic Determination of Parathion and Paraoxon in Fish and Tissues. *J Anal Toxicol*, 1996; 20: 151-154.
40. **IARC, Occupational exposures in insecticide application and some pesticides IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans**, 1991; 53: 267-309.
41. **Pesticides and Cancer, Pesticides and Human Health: A Resource for health care professionals.** Erişim: (<http://www.biny.purdue.edu/Pubs/PPP/PPP-40.pdf>.) Erişim tarihi: 05.03.2003
42. **Rowsey PJ, Gordon CJ.** Tumor necrosis factor is involved in chlorpyrifos-induced changes in core temperature in the female rat. *Toxicology Letters*, 1999 ;109: 51-59.
43. **Stallones L, Beseler C.** Pesticide Illness, Farm Practices, and Neurological Symptoms among Farm Residents in Colorado. *Environ Research*, 2002; 90 :80-97.
44. **Axelrad JC, Howard CV, McLean WG.** The effects of acute pesticide exposure on neuroblastoma cells chronically exposed to diazinon. *Toxicology*, 2003 ; 185: 67-78.
45. **Navarro HA, Basta PV, Seidler FJ, Slotkin TA.** Neonatal chlorpyrifos administration elicits deficits in immune function in adulthood: a neural effect?. *Develop Brain Research*, 2001; 130 : 249-252.
46. **Tian Y, Yamauchi T.** Micronucleus formation in 3-day mouse embryos associated with maternal exposure to chlorpyrifos during the early preimplantation period. *Reproduc Toxicol*, 2003; 17: 401-405.
47. **Castro VL, Chiorato SH, Pinto NF.** Relevance of developmental testing of exposure to methamidophos during gestation to its toxicology evaluation. *Toxicology Letters*, 2000; 118 : 93-102.
48. **Lazarini CA, Kima RY, Guedes AP, Bernardi MM.** Prenatal Exposure To Dichlorvos: physical and behavioral effects on rat offspring. *Neurotoxicology and Teratology*, in press, 2004; 1-8.
49. **Moretto A.** Experimental and clinical toxicology of anticholinesterase agents. *Toxicology Letters*, 1998; 102-103 : 509-513.
50. **Oglobline AN, O'Dannell, Geyer R, Holder GM, Tattom B.** Routine Gas Chromatographic Determination of Dialkylphosphate Metabolites in the urine of Workers Occupationally Exposed to Organophosphorus Insecticides. *Journal of Analytical Toxicology*, 2001;25:153-157.
51. **Heudorf U, Angerer J.** Metabolites of Organophosphorous Insecticides in Urine Specimens from Inhabitants of a Residential Area. *Environ Research*, 2001; 86 :80-87.
52. **Cocker J, Mason HJ, Garfitt SJ, Jones K.** Biological monitoring of exposure to organophosphate pesticides. *Toxicology Letters*, 2002; 134 : 97-103.
53. **Junting L, Chuichang F.** Solid Phase Extraction Method for Rapid Isolation and Clean-up of Some Synthetic Pyrethroid Insecticides from Human Urine and Plasma. *Forensic Sci Int*, 1991; 51: 89-93.
54. **Richter ED, Safi J,** Pesticide Use, Exposure, and Risk: A Joint Israeli-Palestinian Perspective. *Environ Research*, 1997; 73 :211-218.
55. **Namera A, Utsumi Y, Yashiki M, Ohtani M, Imamura T, Kojima T.** Direct colorimetric method for determination of organophosphates in human urine. *Clin Chim Acta*, 2000; 291 : 9-18.
56. **Aprea C, Colosio C, Mammone T, Minoia C, Maroni M.** Biological monitoring of pesticide exposure: a review of analytical methods. *J Chromatogr B*, 2002; 769:191-219.

57. Ray DE. Chronic effects of low level exposure to anticholinesterases-a mechanistic review. *Toxicology Letters*,1998 ;102-103 : 527-533.
58. Akgür SA, Öztürk P, Yüce G, Veral A, Ege B. The Relation Between Organophosphate Poisoning and Adult Respiratory Distress Syndrome. *39 th TIAFT Meeting*, Prague- Czech, 2001.
59. Mahieu P, Hassoun A, Binst VR, Lauwerys R, Deheneffe Y. Severe and Prolonged Poisoning by Fenthion. Significance of the Determination of the Anticholinesterase Capacity of Plasma. *J.Toxicol.- Clin.Toxicol*,1982; 19: 425-432.
60. Storm JA, Rozman KK, Doull J. Occupational exposure limits for 30 organophosphate pesticides based on inhibition of red blood cell acetylcholinesterase. *Toxicology*, 2000; 150: 1-29.
61. Soriano T, Jurado C, Menendez M, Repetto M. Improved Solid-Phase Extraction Method for Systematic Toxicological Analysis in Biological Fluids. *J Anal Toxicol*, 2001; 25: 137-143.
62. Juhler RK. Optimized method for the determination of organophosphorus pesticides in meat and fatty matrices. *J Chromatogr A*, 1997; 786: 145-153.
63. Kuo TL. Solid Phase Extraction and Spectrophotometric Determination of Paraquat in Biological Fluid. *TIAFT/SOFT International Meeting*. USA, 1994: 96-101.
64. Kawasaki S, Ueda H, Itoh H, Tadano J. Screening of organophosphorus pesticides using liquid chromatography- atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J Chromatogr*, 1992; 595: 193-202.
65. Yasin M, Baugh PJ, Bonwick GA, Davies DH, Hancock P, Leinoudi M. Analytical method development for the determination of synthetic pyrethroid insecticides in soil by gas chromatography-mass spectrometry operated in negative-ion chemical-ionization mode. *J Chromatogr*,1996; 754: 235-243.
66. Itoh H, Kawasaki S, Tadano J. Application of liquid chromatography- atmospheric-pressure chemical-ionization mass spectrometry to pesticide analysis. *J Chromatogr*,1996; 754: 61-76.
67. Russo MV, Campanella L, Avino P. Determination of organophosphorus pesticide residue in human tissues by capillary gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry analysis. *J Chromatogr B*, 2002; in press: 1-11.
68. Brzak KA, Harms DW, Bartels MJ, Nolan RJ. Determination of Chlorpyrifos, Chlorpyrifos Oxon, and 3,5,6-Trichloro-2-Pyridinol in Rat and Human Blood. *J Anal Toxicol*, 1998; 22: 203-210.
69. Tarbah FA, Mahler H, Temme O, Daldrup T. An Analytical method for the rapid screening of organophosphate pesticides in human biological samples and foodstuffs. *Forensic Science International*, 2001; 121: 126-133.
70. Abdi YA, Villen T, Gustafsson LL. Methodological commentary on the analysis of metrifonate and dichlorvos in biological samples. *J Chromatogr*, 1993; 612: 336-337.
71. Söylemezoğlu T, Çeçen ŞŞ. Katı faz ekstraksiyon yöntemi ve analitik toksikolojide uygulanması. Ankara Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Yayını (1), Ankara:Ankara Üniversitesi Basımevi,2003.
72. Lacossie E, Marquet P, Gaulier JM, Dreyfuss MF, Lachatre G. Sensitive and specific multiresidue methods for the determination of pesticides of various classes in clinical and forensic toxicology. *Forensic Science International*, 2001; 121: 116-125.

73. **Futagami K, Narazaki C, Kataoka Y, Shuto H, Oishi R.** Application of high-performance thin-layer chromatography for the detection of organophosphorus insecticides in human serum after acute poisoning. *J Chromatograph*, 1997; 704: 369-373.
74. **Flanagan RJ, Widdop B, Ramsey JD, Loveland M.** Analytical Toxicology. *Hum. Toxicol*, 1988;7:488-502
75. **Barr DB, Barr JR, Maggio LV, Whitehead RD, Sadowski MA, Whyatt RM, Needham LL.** A multi-analyte method for the quantification of contemporary pesticides in human serum and plasma using high-resolution mass spectrometry. *J Chromatogr B*, 2002; 778: 99-111.
76. **Rodriguez P, Permanyer J, Grases JM, Gonzalez C.** Confirmation method for the identification and determination of some organophosphorus and organochlorine pesticides in cocoa beans by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr*, 1991; 562: 547-553.
77. **Lacossie E, Marquet P, Gaulier JM, Dreyfuss MF, Lachatre G.** Sensitive and specific multiresidue methods for the determination of pesticides of various classes in clinical and forensic toxicology. *Forensic Science International*, 2001; 121: 116-125.
78. **Singh AK, Hewetson DW, Jordan KC, Ashraf M.** Analysis of Organophosphorus Insecticides in Biological Samples By Selective Ion Monitoring Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *J Chromatogr*, 1986; 369: 83-96.
79. **Frenzel T, Sochor H, Speer K, Uihlein M.** Rapid Multimethod for Verification and Determination of Toxic Pesticides in Whole Blood by Means of Capillary GC-MS. *J Anal Toxicol*, 2000; 24: 365-371.
80. **Ferner RE.** Forensic Pharmacology. Oxford University Press, New York, 1996, 37-41.
81. **Alikaşifoğlu N.** Postmortem kanda kolinesteraz aktivite tayininin adli toksikoloji açısından değerlendirilmesi. Yüksek lisans tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1995.
82. **Aprea C, Sciarra G, Lunghini L.** Analytical Method for the Determination of Urinary Alkylphosphates in Subjects Occupationally Exposed to Organophosphorus Pesticides and in the General Population. *J Anal Toxicol*, 1996; 20: 559-563.

ÖZGEÇMİŞ

Nebile Dağlıoğlu 1972 Yılında Ankara'da doğmuştur. İlk, orta ve lise öğrenimini Ankara'da tamamladıktan sonra, 1993 yılında Gazi Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümünden mezun olmuştur. 1996 yılında Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünden Yüksek Lisans eğitimini tamamlayarak Yüksek mühendis ünvanını almıştır. 1993-1996 yılları arasında Gesmak Ltd. Şti.'de, 1997-1999 yılları arasında Akdeniz Gübre San. A.Ş. 'de Kalite Kontrol Laboratuvarında mühendis olarak çalışmıştır.

2000 yılında Ç.Ü. Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı'nda uzman olarak çalışmaya başlamıştır. 2001 yılında ise Adli Toksikoloji Yüksek lisans Programına başlamıştır. Halen Ç.Ü. Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalında uzman olarak görev yapmaktadır. Evli ve iki çocuk annesidir.

