

Penisilin Bağlayıcı Protein (PBP2[']) Lateks Aglütinasyon Testi

REF DR0900A.....



TR

1. KULLANIM AMACI

Bu test, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve metisiline dirençli koagülaz negatif stafilokokları tanımlamakta bir yardımcı olarak *Staphylococcus* izolatlarında PBP2['] (PBP2a olarak da adlandırılır)⁷ saptanmasında kullanılan hızlı bir lateks aglütinasyon tayinidir.

2. TEST PRENSİPLERİ

Stafilokoklar, dünya çapında hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonların önde gelen bir nedenidir². Birçok kurumda *S. aureus* suşlarının yaklaşık %25 ila %50'si ve koagülaz negatif stafilokokların (CoNS) yaklaşık %75'i metisiline karşı dirençlidir¹². MRSA, belirli epidemik suşların yaygın hastalarda kolayca yayılması ve koloni oluşturmaya nedeniyle özel ilgi konusudur. Beta-laktam ilaçların vücut sıvılarına ve dokulara daha kolay absorbe edilmesi, tedavi kaynaklı daha az komplikasyona neden olması ve vankomisine dirençli organizmalarda seçici olmaması sebebiyle, duyarlı suşların penisilinaza dirençli penisilinlerle (PRP) tedavisi tercih edilir. Metisilin direncinin güvenilir bir şekilde tanımlanması bu nedenle önemlidir.

PRP'ye karşı duyarlılığı düşük olan *S. aureus* suşları aşağıdaki şekilde kategorize edilir:

- iii(i) meCA geni tarafından kodlanan, düşük afiniteli penisilin bağlayıcı PBP2['] proteinini üreten metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA)^{3,6}
- ii(ii) Genel olarak tip A - beta- laktamazın aşırı üretiminden kaynaklandığı düşünülen, metisiline sınırda direnç gösteren *S. aureus* (Borsa)¹⁰
- (iii) değişen penisilin bağlama kapasitesi veya aşırı PBP üretimi kaynaklı olarak modifiye PBP'lere sahip suşlar (MODSA)^{1,2}. MODSA yalnızca nadiren izole edilmiş olup beta-laktam tedavisine verdikleri klinik yanıt yeterince incelenmemiştir. Dolayısıyla klinik amaçlar doğrultusunda, *S. aureus* ve CoNS enfeksiyonlarının tedavisinde metisilin direncinden ender istisnalar ile PBP2['] mevcudiyeti sorumludur^{2,6}.

Metisiline dirençli fenotip yüksek derecede heterojen olabilir; bu da Minimum İnhibe Edici Konsantrasyon (MIC), disk ve agar tarama testi gibi geleneksel antimikrobiyal duyarlılık testi yöntemleriyle saptanmasını güçleştirir. Bu yöntemlerin doğruluğu inokulum büyüklüğü, inkübasyon süresi ve sıcaklığı, ortam, pH, tuz konsantrasyonu ve diğer faktörlerden etkilenir⁹. Ayrıca bu kültür yöntemleri doğru sonuçların elde edilmemesi için 24 saatlik inkübasyon gerektirir. CoNS çoğunlukla daha az miktarda PBP2['] üretir ve saptanmak üzere yeterli ürünü üretmesi için PRP'lerden birine maruz bırakılarak hareket geçirilmesi gerekir^{2,3,12}.

meCA geninin saptanması, doğruluğu dolayısıyla metisilin direncinin tespitinde altın standart olarak kabul edilmiştir, ancak bu yöntem gerçekleştirilmesi pahalı ve emek yoğun bir yöntemdir^{1,6}. Oksid PBP2['] Lateks Testi, minimum emek sarf edilerek hızlı bir zaman diliminde, PBP2['] proteinini doğrudan saptama avantajına sahiptir. meCA içeren ancak bu genin protein ürününü üretemeyen suşlarla yanlış pozitif sonuçlara ortaya çıkmayacağından, meCA geninin saptanmasından daha daha doğru olma potansiyeline sahiptir. Ayrıca bu tayin aşırı beta-laktamaz veya PBP üreticileri olan suşları saptamaz.

Oksid PBP2['] testi önceden dünya çapında değerlendirilmiş olup yüksek hassasiyeti ve özgüllüğe sahip olduğu kanıtlanmıştır^{4,5,11}.

PBP2[']ye karşı monoklonal bir antikor ile duyarlılaştırılan lateks partikülleri özellikle metisiline dirençli stafilokoklarla reaksiyona girerek aglütinasyonun çıplak gözle görünür olmasına neden olacaktır.

3. KİTİN BİLEŞENLERİ

TEST LATEX	DR0901 Test, PBP2 ['] ye karşı bir monoklonal antikor ile duyarlılaştırılan sentetik lateks partikülleri
CONTROL LATEX	DR0902 Kontrol, <i>S. aureus</i> proteinleriyle hiçbir reaktivite göstermeyen aynı IgG alt sınıfına ait bir monoklonal antikor ile duyarlılaştırılan tavşan antikorlu ile kaplı sentetik lateks partikülleri
EXTRACTION REAGENT 1	DR0903 Ekstraksiyon Reaktifi 1
EXTRACTION REAGENT 2	DR0904 Ekstraksiyon Reaktifi 2
	Test Kartları Karıştırma Çubukları Taliimat Kitapçığı

4. GEREKLİ OLAN ANCAK SAĞLANMAYAN MALZEMELER

- Mikropipet ve uçları (50 µl)
- Mikrobiyolojik luplar (5 µl/1 µl)]
- Kaynar su banyosu veya ısıtma bluğu
- Santrifüj (1500 x g)
- Mikrosantrifüj tüpleri (kilit sistemli)
- Uygun laboratuvar dezenfektanı

5. ÖNEMLER

IVD Bu ürün yalnızca in vitro tanı amaçlı kullanıma yöneliktir.

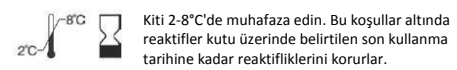
Isıtma süresi üç dakika olmalıdır. Beş dakikadan daha uzun süre ısıtmak hassasiyette azalmaya neden olabilir. Yalnızca bir dakika veya daha kısa süre ısıtmak ise spesifik olmayan aglütinasyona neden olabilir. Santrifüjü takiben testte kullanılmak üzere üst fazın alınması sırasında, tüpün dibinde katı madde kalmasını önlemek için pipeti dikkatli bir şekilde çekin. Katı maddenin taşınması spesifik olmayan aglütinasyona neden olabilir. Kullanıldan önce homojen bir süspansiyon oluşturmak için Lateks Reaktiflerini iyice çalkalayın.

Reaktifler koruyucu olarak %0,095 sodyum azit içerir. Sodyum azit toksiktir ve kurşun ya da bakır tesisat ile reaksiyona girerek temas detonasyonu patlayıcı hale gelebilme metal azitleri üretirler. Tesisatta azit birikimini önlemek için atıkları boşalttıktan hemen sonra bol miktarda su akıtin.

Numune materyalleri patojenik organizmalar içerebileceğinden uygun önlemleri olarak işlem yapın. Ekstraksiyon prosedürü bakterileri öldürmeyebilir; bu nedenle ekstrakt üzerindeki işlemler aynı önlemlerle yürütülmelidir.

Ekstraksiyon Reaktifi 1 ve 2, hafif bir tahriş edici madde ve zayıf bir asit içerir. Uygun koruyucu ekipman kullanmak suretiyle doğrudan temastan kaçının. Materyalin deri, mukoz membranlar veya gözlerle temas etmesi halinde temas bölgesini derhal bol suyla yıkayın.

6. SAKLAMA



Kiti 2-8°C'de muhafaza edin. Bu koşullar altında reaktifler kutu üzerinde belirtilen son kullanma tarihine kadar reaktifliklerini korurur.

7. KONTROL PROSEDÜRLERİ

Her yeni kit lotu için ve sonrasında haftalık olarak aşağıdaki kontrol prosedürleri gerçekleştirilmelidir.

- Pozitif Kontrol**
ATCC® 43300 (Thermo Scientific Culti-Loops™ R4609022) gibi bilinen bir MRSA suşu kullanın. Test prosedüründe belirtilen yöntemi takip edin. 3 dakika içinde aglütinasyon meydana geldiğinden emin olun.
- Negatif Kontrol**
ATCC® 25923 veya ATCC® 29213 (Thermo Scientific Culti-Loops® R4607010 veya R4607011) gibi bilinen bir Metisiline Duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) suşu kullanın. Test prosedüründe belirtilen yöntemi takip edin. 3 dakika içinde herhangi bir aglütinasyon meydana gelmediğinden emin olun. Kontrol organizmalarıyla olan reaksiyonlar hatalıysa testi kullanmayın.
- Son kullanma tarihleri geçen kitleri kullanmayın.

8. ÖNEMLİ PROSEDÜR NOTU

Damlalık ucunun reaksiyon kartı üzerindeki numuneye değmesiyle reaktiflerin kontamine hale gelmesine izin vermeyin. Kontaminasyonu ve reaktiflerin kurumasını önlemek için kullandıktan sonra kapakları sıkıca kapatmanızdan emin olun. Kullandıktan sonra kiti, şişelerin dik pozisyonda saklanmasına dikkat ederek soğutucuya geri koyun.

9. KÜLTÜRÜN HAZIRLANMASI

Aşağıdaki kültür ortamlarının herhangi birinden alınan koloniler test edilebilir:

%5 koyun kanı (TSA kanı) içeren Tryptone Soya Agar (Triptik Soya Agarı), %5 koyun kanı içeren Columbia Agar, Mueller-Hinton Agar. Taze (18-24 saatlik) kültürlerin kullanılması tavsiye olunur. Ancak yeterli büyüme elde edilmesi gerekiyorsa 24-48 saatlik kültürler de test edilebilir. Bu kitapçıkta alıntılanan performans verileri, Kuzey Amerika Gıda ve İlaç İdaresi'ne (North American Food and Drugs Administration) yapılan sunumun bir parçası olarak bu ortamlar kullanılarak oluşturulmuştur. Dosyadaki veriler, testin aynı zamanda %5 at kanı içeren Tryptone Soya Agar ve Columbia Agar, Iso-Sensitest Agar ve DSTA'dan elde edilen *S. aureus* kolonileriyle de etkili olduğunu göstermektedir. Bu ortamlar Avrupa'da yaygın olarak kullanılmakta ancak Kuzey Amerika'da kullanılmamaktadır; bu yüzden Performans Özellikleri bölümünde gösterilen verileri oluşturmak için kullanılan çalışmalarda söz konusu ortamlar kullanılmamıştır.

Özel gereklilikler:

PBP2['] testi yalnızca *Staphylococcus* türleri (Gram pozitif koklar) üzerinde gerçekleştirilmelidir. İzolatın, *S. aureus* veya başka bir *Staphylococcus* türü olup olmadığını belirlemek amacıyla koagülaz testi veya eşdeğer bir test gerçekleştirilmelidir.

İnokulum hazırlama:

S. aureus için test, yeterli büyüme varsa primer izolasyon plakasında iyi izole edilmiş kolonilerle ya da izolatın bir alt kültürüyle gerçekleştirilebilir. Plaka üzerinde mevcut olan başka mikrobiyotaların tayini etkilediğine dair herhangi bir kanıt gösterilmemiştir. Koagülaz negatif stafilokoklarda yeterli PBP2['] üretimi için bir indüksiyon gereklidir.

- Organizmanın 1 McFarland standartında eşdeğer bir besiyeri süspansiyonunu hazırlayın ve kan içeren TSA, Columbia Kan Agar veya Mueller-Hinton Agar üzerine çizgi halinde ekim yapın. Alternatif olarak agar plakasını birkaç koloni ile inoküle edin ve dört bölgeye çizgi halinde yayın.
- Organizma ekimi yapılan yer üzerine veya dörtte birlik ana inokulum bölgesi üzerine bir oksaslin diski (1 µg/ml) yerleştirin.
- En az 24 saat boyunca ancak 48 saatten uzun olmayacak şekilde 37°C'de inkübe edin.

Dikkat: Yanlış negatif sonuçları önlemek için, yeterli inokulum elde edildikten testi gerçekleştirilmeyin. Organizmaları daima diske yakın yerden hasat edin.

10. TEST YÖNTEMİ

PBP2['] Ekstraksiyon Prosedürü

- Bir mikrosantrifüj tüpüne dört damla Ekstraksiyon Reaktifi 1 ekleyin.
- Yaklaşık 1,5 x 10⁹ (3-5 µl) hücre test edilmelidir. Bu, 5 µl'lik steril bir lup kullanılarak, lupun iç çapını doldurmaya yetecek kadar çoğalmış koloninin çıkarılmasıyla elde edilebilir. Alternatif olarak 1 µl'lik steril bir lup kullanılarak birkaç koloni çıkarılabilir ve lupun dış çapını kaplayan 1 mm yüksekliğinde yığılı bir lup dolusu çekip çıkarılabilir. Test kültürünü mikrosantrifüj tüpü içinde süspansiyon haline getirin. Kümelermeler mevcut ise vorteks yaparak karıştırın. Son derece bulanık bir süspansiyon görünür hale gelsin.
- Tüpü kaynar su veya ısıtma bluğu (95°C'NİN ÜZERİNDE) içine yerleştirin ve üç dakika boyunca ısıtın.
- Mikrosantrifüj tüpünün çıkarın ve oda sıcaklığına gelene kadar soğumaya bırakın.
- Tüp içine bir damla Ekstraksiyon Reaktifi 2 ekleyin ve iyice karıştırın.
- 1500 x g'de beş dakika boyunca santrifüj uygulayın (yani 15 cm'lik rotasyon altında 3000 devir/dakika veya daha 4,5 cm rotasyon yarıçapında 4500 devir/dakika). Test için üst fazı kullanın.

Lateks Aglütinasyon Prosedürü

- Test edilecek her bir üst faz için, bir test kartı dairesini Test Lateksi ile test için, başka bir test kartı dairesini ise Kontrol Lateksi ile test için etiketleyin.
- Lateks reaktiflerini kuvvetli çalkalama ile iyice karıştırarak lateksi her kullanımdan önce pürüzsüzleştirin ve etiketlenen her bir daireye bir damla Test Lateksi veya Kontrol Lateksi ekleyin.
- Topaklaşmayı önlemeye dikkat ederek Test dairesine ve Kontrol dairesine 50 µl üst faz koyun. Bir karıştırma çubuğu ile her bir dairedeki lateksi ve üst fazı tamamen karıştırın.
- Kartı alıp en fazla üç dakika boyunca sallayın ve normal ışık koşulları altında aglütinasyon olup olmadığını inceleyin. Test ve kontrol reaksiyonlarının sonuçlarını kaydedin.
- Reaksiyon kartını güvenli bir şekilde dezenfektan veya enfeksiyöz atık yerine atın.

11. SONUÇLARIN OKUNMASI VE YORUMLANMASI

3 dakika içinde Test Lateksinde aglütinasyon görülür, Kontrol Lateksinde görülmez	PBP2 ['] Pozitif (MRSA)
3 dakika içinde iki Lateks Reaktifinde de hiçbir aglütinasyon görülmez	PBP2 ['] Negatif (MSSA)
3 dakika içinde Kontrol Lateksinde aglütinasyon görülür	Belirsiz

Aglütinasyon reaksiyonunun kuvveti

Negatif (-)	= görünür kümelene içermeyen homojen bir partikül süspansiyonu
Zayıf pozitif (+)	= bulanık bir arka planda küçük ancak belirgin kümeler
Güçlü pozitif (+)	= hafif bulanık bir arka planda büyük ve küçük kümeler veya son derece berrak bir arka planda büyük kümeler.

Önemli Not: Arada sırada negatif reaksiyonlar ince bir granüler görünümde olabilir ya da reaksiyonlar ince çizgiler halinde olabilir. Bu gibi durumlarda sonucun yorumlanmasında arka planın berraklık derecesi kullanılmaldır. Opak bir arka plan negatif bir sonuca işaret eder, berrak bir arka plan ise pozitif bir sonuç olarak yorumlanmalıdır.

12. SINIRLAMALAR

Belirsiz reaksiyonlar taze bir ekstrakt ile yeniden test edilmelidir. Yeniden test sonrasında sonuç tekrar belirsiz çıkarsa, metisilin direnci diğer yöntemlerle belirlenmelidir. Test için yetersiz kültür kullanılması halinde yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilir. Bu gibi durumlarda test yeterli kültüre tekrarlanmalıdır.

Gerçek pozitif sonuçlar genellikle güçlü reaksiyonlara sahiptir. Yanlış pozitif reaksiyonların nadiren meydana geldiği bilinmektedir ancak bunlar genellikle zayıf reaksiyonlarla sınırlıdır. Böyle sonuçlar taze bir kültür ile yeniden test gerçekleştirilerek doğrulanabilir.

Modifiye *S. aureus* (MODSA) ve sınırda dirençli *S. aureus* (Borsa) suşları PBP2['] içermez ve bu tayinde reaksiyon göstermeleri beklenmez.

Bazı organizma suşları, düşük düzeyde metisilin direncine sahip olabilir ya da nadir durumlarda az miktarda PBP2['] üretebilir; bunlar yanlış negatif bir sonuç verirler.

Koagülaz negatif stafilokoklara yönelik CLSI duyarlılık testi yöntemlerinin hassasiyeti ve özgüllüğündeki sınırlamalar⁹ nedeniyle, özellikle *Staphylococcus epidermidis* dışındaki suşlarda, PBP2['] tayini ile elde edilen sonuçlar standart duyarlılık testlerinin sonuçlarıyla uyusmayabilir. ≥0,5 µg/ml MIC'lere sahip suşlar, PBP2['] tayini sonuçlarına bakılmaksızın metisiline dirençli kabul edilmelidir.

13. PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

- Oksid Penisilin Bağlayıcı Protein Lateks Aglütinasyon Testi, coğrafi olarak farklı dört laboratuvarda taze *Staphylococcus aureus* klinik izolatları kullanılarak değerlendirilmiştir. Üç ortamın her birinden elde edilen 201 izolat, NCCLS yöntemleriyle ve Oksid PBP2['] testiyile test edilmiştir. Kanlı TSA ile bir zayıf yanlış pozitif Oksid Lateks reaksiyonu (tekrarlandığında negatif) tespit edilmiştir. Mueller-Hinton Agar'dan elde edilen 3 zayıf (ancak pozitif) reaksiyon hariç tüm pozitif reaksiyonların güçlü çıkmıştır. Lateks testinin her bir ortamda MRSA saptanmasına ilişkin hassasiyeti %100'dür; özgüllük kanlı TSA için %99 ve diğer tüm ortamlardaki testler için %100 bulunmuştur.

201 taze *S. aureus* klinik izolatının 4 laboratuvarada test edilmesinden elde edilen sonuçlar:

	MRSA	BORSA ^A	MSSA
Test edilenlerin sayısı	68	3	130
Oksasilin Tuz Agar'da (NCCLS) Büyüme	68	0	0
MIC ≥4 µg/ml (NCCLS)	68	0	0
TSA Kanından elde edilen Pozitif Lateks	68	0	1 (1) ^B
Columbia Kanından elde edilen Pozitif Lateks	68	0	0
Mueller-Hinton'dan elde edilen Pozitif Lateks	68 (3) ^B	0	0

^A MIC'ler 2 µg/ml ve mecA negatif bulunmuştur.

^B Zayıf reaksiyonların sayısı parantez içinde gösterilmiştir.

2. Coğrafi olarak üç farklı bölgede *S. aureus* duyarlılık (challenge) suşlarında yapılan testler:

Üç laboratuvarın her biri daha önceden toplanmış *S. aureus* suşlarından oluşan bir seti incelemiş ve PBP2' sonuçlarını MRSA tespitine ilişkin NCCLS yöntemleriyle karşılaştırmıştır. Kanlı TSA'dan toplam 724 suş test edilmiştir. Oksoid PBP2' testinin hassasiyeti %98,5, özgüllüğü ise %100 bulunmuştur. Agar tarama ve MIC yöntemlerinin hassasiyetleri %98,7 ve %99,2, özgüllükleri ise %90,0 ve %88,7 bulunmuştur. Ayrıca iki MODSA suşu ayrı ayrı test edilmiştir; her iki suş da Lateks testiyle negatif bir sonuç vermiştir.

3. Koagülaz negatif stafilokokların testi

İki laboratuvarda koagülaz negatif stafilokoklar oksasilin diskleri ile indüksiyon sonrasında PBP2' açısından test edilmiştir. Bir laboratuvarda, 58 taze klinik izolat dahil olmak üzere 115 adet metisiline dirençli suş ve 45 adet metisiline duyarlı suş test edilmiştir. Hassasiyet, TSA kaniyla yapılan testte %96,5, Mueller-Hinton Agar ile yapılan testte ise %95,6 bulunmuştur. Özgüllük, TSA kaniyla %100, Mueller-Hinton Agar ile %98 bulunmuştur. Mueller-Hinton Agar ile iyi bir inokulum elde edilmesi daha zor olmuştur. İkinci laboratuvarda inokulum için Columbia Agar üzerinde büyüme kullanılarak 212 adet metisiline dirençli suş ve 203 adet metisiline duyarlı suş test edilmiş olup hassasiyet %99,5 ve özgüllük %99,5 bulunmuştur.

4. Tekrarlanabilirlik

Birbirinden farklı on adet iyi karakterize edilmiş *S. aureus* suşu (3 MRSA, 3 MSSA, 3 BORSA ve 1 MODSA), her bir suş kodlanarak ve kimliği karartılarak 5 kez gönderilmek üzere coğrafi olarak farklı üç laboratuvara gönderilmiştir. 150 test sonucunun tümü %100 tekrarlanabilirlik açısından beklenen sonuçlarla uyumuştur. Üç mecA pozitif suşu, test edildikleri her seferde pozitif sonuç vermiştir (45/45 test). Üç MSSA ve üç BORSA suşu, test her gerçekleştirildiğinde negatif sonuçlar vermiştir (90/90 test). MODSA suşlarının oksasiline karşı 16 µg/ml'lik bir MIC'ye sahip olduğu görülmüş ve bu suşlar Oksoid Lateks Testinde, test her gerçekleştirildiğinde, beklendiği gibi, negatif bir sonuç vermiştir (15/15 test).

14. REFERANSLAR

1. Bignardi G.E., Woodford N., Chapman A., et al (1996). J. Antimicrobiol. Chemother., 37:53-63.
2. Chambers H.F., (1997). Clin. Microbiol. Rev., 10:781-791.
3. Gerberding J.L., Miick C., Liu H.H., et al (1991). Antimicrob. Agents Chemother., 35:2574-2579.
4. Hussain Z., Stoakes L., Garrow S., et al (2000). J. Clin. Microbiol., 38:2051-2054.
5. Louie L., Matsumura S.O., Choi E., et al (2000). J. Clin. Microbiol., 38:2170-2173.
6. Murakami K., Minamide W., Wada K., et al (1991). J. Clin. Microbiol., 29:2240-2244.
7. Nakatomi Y., and Sugiyama J., (1998). Microbiol. Immunol., 42:739-743.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2000 Approved Standard Fifth Edition (M7-A5)). National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
9. Tenover F.C., Jones R.N., Swenson J.M., et al (1999). J. Clin. Microbiol., 37:4051-4058.
10. Thornsby C. and McDougal L. (1983). J. Clin. Microbiol., 18:1084-1091.
11. Yamazumi T., Marshall S.A., Wilke W.W., et al (2001). J. Clin. Microbiol., 39:53-56.
12. York M.K., Gibbs L., Chehab F., et al (1996). J. Clin. Microbiol., 34:249-253.

15. SEMBOLLERİN AÇIKLAMASI

	Katalog Numarası
	<i>In Vitro</i> Tanı Amaçlı Tıbbi Cihaz
	Kullanım Talimatlarına (IFU) Başvurun
	Sıcaklık Sınırlamaları (Saklama sıcak.)
	<N> test için yeterli içeriğe sahiptir
	Seri Kodu (Lot Numarası)
	Son Kullanma Tarihi
	İmalatçı

 ATCC Licensed Derivative Amblemi™,
ATCC Licensed Derivative marka ismi® ve ATCC katalog markaları
ATCC'nin ticari markalarıdır. Oksoid Limited, bu ticari markaları
kullanmak ve ATCC® kültürlerinden türetilen ürünleri satmak için
lisansa sahiptir.



IFU X6555C, Revizyon: Ekim 2015

Basıldığı yer: İngiltere



Oksoid Limited,
Wade Road,
Basingstoke,
Hampshire, RG24 8PW
İngiltere

Teknik yardım için lütfen yerel dağıtıcınızla iletişim kurun.