

## Hastane İnfeksiyonlarında Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarının Rolü

◆ Prof. Dr. Bengül Durmaz

*İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD. - Malatya*

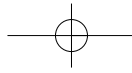
Son on yıldan beri hastane infeksiyonu kontrol komitesi ve klinik mikrobiyoloji laboratuvarının işleri gittikçe artan bir şekilde kompleks hale gelmiştir ve iki disiplinin birlikte çalışması kaçınılmaz olmuştur. Görevlerini yerine getirmede etkin ve yeterli, her biri kendi dalında uzman, infeksiyon kontrol komitesi üyeleri ve klinik mikrobiyolog birlikte çalışarak hastane infeksiyonlarının önlenmesine katkıda bulunmaktadır.

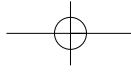
Mikrobiyoloji laboratuvarı, hastane infeksiyonu salgınlarının araştırılması, tanımlanması ve kontrolünde önemli rol oynar. Hastane infeksiyonlarına sebep olan mikroorganizmaların hastalardan, tıbbi gereçlerden ve çevresel kaynaklardan izole edilmesi, tür tanımlaması ve duyarlılık testlerinin yapılması, suşların tiplendirilmesi ve aralarındaki klonal ilişkiyi belirleme gibi görevleri gerçekleştirir. Böylece, hem klinisyen hastane infeksiyonunun teşhis ve tedavisini daha etkin olarak yapabilir, hem de infeksiyon kontrol ekibi, bu infeksiyonları izleyip, önleme ve kontrol görevini yerine getirebilir.

Mikrobiyoloji laboratuvarı, geleneksel rolüne ilave olarak, sürveyans çalışmalarına aktif olarak katılmalı, hastane infeksiyonlarının mikrobiyolojik ve moleküler epidemiyolojik araştırmalarını gerçekleştirebilmek için plan yaparak, uygulamaya koymalıdır.

### Klinik Mikrobiyolog ve İnfeksiyon Kontrol Komitesinin İşbirliği

Klinik mikrobiyolog, infeksiyon kontrol ekibinin ayrılmaz bir parçasıdır ve infeksiyon kontrol komitesinin aktif bir üyesi olmalıdır. İnfeksiyon kontrol komitesinin ka-



**◆ Bengül Durmaz**

rarları, mikrobiyolojik test sonuçlarına bağlı olduğundan; klinik mikrobiyolog, kültür sonuçlarının nasıl yorumlanacağını ve özgül infeksiyon kontrol problemlerini çözmek için hangi mikrobiyolojik yaklaşımların kullanılabileceğini komiteye öğretmelidir.

Komiteye bu hizmeti verirken, aynı zamanda hastane epidemiyolojisi ve infeksiyon kontrol personelinin karşılaştığı problemleride öğreneceğinden laboratuvarın cevabını daha iyi organize edebilecektir. Mikrobiyolog, infeksiyon kontrol komitesinin temel mikrobiyoloji prensipleri ve tekniklerini anlayabilmesini sağlamalıdır. En sık görülen hastane infeksiyonu etkenini araştırma ve tanımlamada kullanılan yöntemlerin duyarlılık ve özgüllüğünü, avantaj ve dezavantajlarını ve maliyetini açıklamalıdır.

Birçok laboratuvar sınırlı para ve personel kaynağına sahip olduğundan; mikrobiyolog, epidemiyolojik araştırmalarda sıklıkla kullanılan mikrobiyolojik testlerin kullanım yerlerini ve maliyetini infeksiyon kontrol ekibinin anlamasına yardımcı olarak sınırlı kaynakların etkin bir şekilde kullanılmasını sağlamalıdır.

İnfeksiyon kontrol ekibinin üyeleri, hedeflerine ulaşabilmek için birbirleri ile iletişim kurmalıdırlar. Mikrobiyolojik ve moleküler epidemiyolojik sonuçları tekrar gözden geçirmek ve problemleri tartışmak için düzenli olarak toplantılar yapmalıdırlar. Mikrobiyolog, infeksiyon kontrol komitesince düzenlenmesi gereken epidemiyolojik prensiplerin ve güncel konuların tartışıldığı konferanslara katılmalıdır.

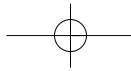
**Hastane İnfeksiyonu Etkenlerinin Doğru Olarak Tanımlanması**

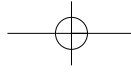
Birçok vakada rutin kültür ve tanımlama yöntemlerinin sonuçları, hastane infeksiyonu olduğunun ilk işaretini verir. Çoğu epidemiyolojik araştırma için, mikrobiyoloji laboratuvarında uygulanan rutin yöntemler yeterlidir. Ancak bazı vakalarda, belli laboratuvar hizmeti ve uzmanlığı gerekebilir. İnfeksiyon kontrol ekibinin hastane infeksiyonlarını saptayıp, karar verebilmesi için testlerin çabuk ve doğru yapılması ve bu testlerin duyarlılığı ve özgüllüğünün yüksek olması gereklidir.

**Hızlı Tanı Testlerinin Kullanılması**

Klinik örneklerden mikroorganizmaları direkt olarak tanımlamada, nükleik asit prob hibridizasyonu, nükleik asit amplifikasyonu ve sinyal veren yöntemler kullanılmaktadır. En yaygın kullanılan yöntem polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile hedef DNA'yı çoğaltmadır. Ayrıca ligaz zincir reaksiyonu (LCR) ve transkripsiyon esaslı amplifikasyon (TMA) gibi testler de kullanılmaktadır (Tablo 1).

Birçok moleküler tanı testi, infeksiyon kontrol amacı ile kullanılamaz ya da kullanımı kısıtlıdır. Mycobacterium tuberculosis, HIV ve HCV 'nin tanısında kullanılan moleküler yöntemler, infeksiyon kontrolüne yardımcı olan hızlı ve duyarlı yöntem-





### Hastane İnfeksiyonlarında Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarının Rolü ◆

**Tablo 1.** Patojenlerin direkt olarak saptanması için ticari olarak geliştirilmiş nükleik asit prob ve amplifikasyon sistemleri

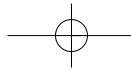
Teknoloji	Organizma	Örnek	Format	Sonuç gösterme sistemi
Nükleik asit problemler	Cytomegalovirus	Buffy coat	Sıvı faz	DNA/RNA hibrid capture
	Human papillomavirus	Servikal	Sıvı faz	DNA/RNA hibrid capture
	Hepatitis B virus	Serum	Katı-faz mikroplak	Branched chain DNA
	Hepatit C virus	Serum	Sıvı faz Katı-faz mikroplak	DNA/RNA hibrid capture Branched chain DNA
	Chlamydia trachomatis	Ürogenital sürüntü	Sıvı faz	Acridinyum ester
	Neisseria gonorrhoeae	Ürogenital sürüntü	Sıvı faz	Acridinyum ester
	Streptococcus pyogenes	Boğaz sürüntüsü	Sıvı faz	Acridinyum ester
Nükleik asit amplifikasyonu	HCV	Serum	PZR	Microtiter capture
	HIV	Serum	PZR	Microtiter capture
	Mycobacterium tuberculosis	Balgam	SDA TMA PZR	Agaroz elektroforez Acridinyum ester prob Microtiter capture
	C. trachomatis	Ürogenital sürüntü	PZR LZR	Microtiter capture Antibody capture
	N. gonorrhoeae	Ürogenital sürüntü	PZR LZR	Microtiter capture Antibody capture

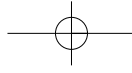
PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu, LZR: ligaz zincir reaksiyonu, TMA: Transcription esaslı amplification, SDA: Strant displacement amplification

lerdir. Hızlı tanı testlerinin kullanımı, özellikle iğne batması veya diğer riskli iş kazalarında profilaksi gerekliliğine karar verebilmesi yönünden iş sağlığı hekimine yardımcı olabilir.

### Tanı ve Duyarlılık Testlerinde Otomatik Sistemlerin Seçilmesi

Yatan hastalarda kolonize olan ve hastaları infekte eden mikroorganizmaların spektrumu devamlı olarak genişlediğinden klinik laboratuvarın hastane infeksiyonu etkenlerini tanımlama yöntemleri de değişmekte ve daha kompleks hale gelmektedir. İzolasyonu ve tanımlaması kolay olan Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, enterokoklar, Candida albicans ve Enterobacteriaceae üyeleri gibi patojenler, nozokomial infeksiyonların çoğundan sorumludurlar. Ancak daha az rastlanan veya zor üreyen patojenler de hastane infeksiyonlarına sebep olurlar. Örneğin: Acinetobacter türleri, Burkholderia cepacia, Stenotrophomonas maltophilia, Aspergillus türleri, Candida'nın albicans dışı türleri, Fusarium türleri, Pneumocystis carini, RSV, Rotavirus, CMV gibi viruslar, Cryptosporidium, Cyclospora ve Microsporidium türleri.





◆ Bengül Durmaz

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarı patojenleri tanımlama ve özelliklerini belirlemede kullanılan yöntemleri sık sık günümüze uyarlamalıdır. Yarı otomatik ve tam otomatik ticari sistemler, geleneksel elle yapılan yöntemlerle yer değiştirmektedir. Otomatik sistemlerin elle yapılan yöntemlere göre avantajları; standardize edilmiş, işyükünü azaltan basitleştirilmiş yöntemler olması, fotometrik veya florometrik teknoloji kullanıldığından daha hızlı ve objektif sonuç vermesi, klasik yöntemlerle karşılaştırıldığında daha özgül ve duyarlı olmalarıdır. Bu avantajlarına rağmen, otomatik sistemlerin özellikle infeksiyon kontrolü ile ilişkili olarak dezavantajları da vardır. Bu sistemlerin 3-5 saat gibi kısa inkübasyon süresi kullanması, antibiyotik duyarlılık testleri için gereken süreyi kısaltmakta, ancak indüklenebilen direnç fenotipi, 3-5 saatten daha uzun inkübasyon süresinde görülebildiğinden, beta laktam antibiyotiklere heterodirenç gösteren mikroorganizmalar yanlış sınıflandırılabilir. Birçok otomatik ticari sistem penisiline dirençli pnömokokları, glikopeptidlere dirençli enterokokları ve beta-laktamlara dirençli Enterobacteriaceae üyelerini tanımlayamaz. Ayrıca bazı tam otomatize sistemler, Gram-negatif basillerin imipenem ve aztreonama dirençli olma durumunu hatalı olarak duyarlı verirler. Bu hatalı duyarlı ya da dirençli sonuçlar, infeksiyon kontrol ekibini yanlış yönlendirebilir.

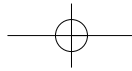
Bu nedenle birçok laboratuvar, otomatize sistemleri disk difüzyon, agar dilüsyon, buyyon dilüsyon, E test gibi elle yapılan ilave duyarlılık testleri ile desteklemektedirler. Mikrobiyoloji laboratuvarı, klinik ve epidemiyolojik verileri destekleyen daha az otomatik ve işyükünü azaltan yöntemleri uygulayabilmelidir. Mikrobiyolog da ima rutin teste ilave edilen tekniğin, infeksiyon kontrol çabalarına bir katkıda bulunup bulunmadığını gözönüne almalıdır.

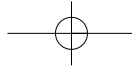
#### **Antimikrobiyal Direnç Sonucu Ortaya Çıkan Patojenlerin Tanımlanması**

Son yıllarda hastane infeksiyonlarının en yaygın etkenleri olarak Gram pozitif bakterilerin ve Candida türlerinin, Gram negatif basillerden daha sık görüldüğü bilinmektedir. Dirençli patojenlerin etken olduğu hastane infeksiyonlarının sıklığında alarm derecesinde artış vardır. Hastane infeksiyonlarına sebep olan, duyarlı türler bile genellikle birden daha fazla antimikrobik grubuna dirençli bulunmaktadır.

İnfeksiyon Kontrol Ekibi, Gram negatif patojenlerin antibiyotiklere direnci, stafilkoklarda kinolon ve metisilin direnci, enterokoklarda çoğul antibiyotik direnci, pnömokok ve diğer streptokoklarda penisilin direnci, Gram pozitif koklarda vankomisin direnci, Candida ve diğer funguslarda poliyen ve azol direnci üzerinde durmalıdır (Tablo 2). Mikrobiyoloji laboratuvarının ilaca direnci izlemedeki rolü, infeksiyon kontrolünün başarısı için çok önemlidir. Dirençli bir mikroorganizma tanımlandığında veya yeni ve alışılmışın dışında bir fenotipik direnç bulunduğu hemen infeksiyon kontrol ekibine haber verilerek uygun izolasyon önlemlerinin alınması sağlanmalıdır.

◆◆◆◆4





### Hastane İnfeksiyonlarında Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarının Rolü ◆

**Tablo 2.** Hastane infeksiyonu etkenleriyle ortaya çıkan antimikrobiyal direnç problemleri

Mikroorganizma	Antimikrobiyal direnç tipi	Mekanizma
Staphylococci (KNS ve S.aureus)	Metisilin Kinolonlar	PBP'de değişiklik DNA giraz'da değişiklik
Enterococci	β-laktam ilaçlar Aminoglikozitler Glikopeptitler	PBP'de değişiklik, β-laktamazlar Aminoglikozid modifiye edici enzimler Pentapeptide D-ala-D-ala ucunun de- ğişmesi
Gram-pozitifler Staphylococcus haemolyticus Lactobacillus türleri Pediococcus türleri Leuconostoc türleri	Vankomisin	Pentapeptide D-ala-D-ala ucunun de- ğişmesi
Gram-negatif basiller	Geniş spektrumlu β-laktam ilaçlar, β- laktamaz inhibitör kombinasyonları Kinolonlar	GSBL, Amp C β-laktamazlar, geçir- genliğin azalması DNA-girazda değişiklik
Funguslar Aspergillus spp Candida krusei C.lusitanae C. glabrata Trichosporon beigelii	Poliyenler ve azoller	Geçirgenliğin azalması, hedef molekü- lün değişmesi veya aşırı üretimi, ak- tif pompalama

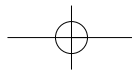
KNS: Koagülaz negatif stafilokoklar, GSBL: Genişlemiş spektrumlu β-laktamazlar, PBB: Penisilin bağlayan proteinler

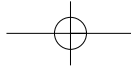
Triazol grubu antifungalların profilaksi ve tedavi amacıyla aşırı kullanımını sonucu, *C.albicans*'ın azole dirençli suşları ve *C.crusei* ve *C.glabrata* gibi antifungallere daha dirençli fungusların sebep olduğu infeksiyonların sayısı artmıştır. Fungal infeksiyon riski çok olan hastaların bulunduğu hastanelerdeki laboratuvarların, bu fungusları tanımlama ve salgınlarını önlemek için surveyans programlarını yapılandırmaları ve tür seviyesinde tanımlamaları gerekir.

#### Laboratuvar Sonuçlarının Çabuk Rapor Edilmesi

Laboratuvar, sonuçlarını mümkün olduğu kadar çabuk rapor etmelidir. Hastanın tedavisi açısından oldukça önemli olduğundan, infeksiyon kontrol ekibine hemen haber verilmesi ve ön bildirim yapılması gereken bazı özel durumlar vardır. Bunlar:

- Kan ve steril vücut sıvılarından pozitif kültür sonuçları
- Aside dirençli bakteriler yönünden pozitif mikroskopi ve kültür sonuçları





◆ Bengül Durmaz

- c. Salmonella ve Shigella gibi enterik patojenlerin üremesi
- d. Çoğul dirençli veya alışılmamış direnç paternine sahip mikroorganizmaların üremesi.

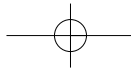
İnfeksiyon kontrol ekibi üyeleri, görevlerini yapabilmeleri için; rutin olarak çıkan mikrobiyoloji raporlarını günlük olarak değerlendirmelidirler. Aksi halde laboratuvarın önerilerini kaçırabilirler. Laboratuvar infeksiyon kontrol ekibini hastaların kolonize veya enfekte olup olmadığı konusunda aydınlatmalıdır. Ayrıca test sonuçlarını kaydederek hangi mikroorganizmanın infeksiyonlara sıklıkla sebep olduğunu ve infeksiyon kontrol komitesinin hastane infeksiyonlarının sıklığını ve diğer özelliklerini analiz etmesini sağlamalıdır. Mikrobiyoloji sonuçlarının özet halinde periyodik olarak verilmesi, hem klinisyen hem de infeksiyon kontrol komitesi için oldukça faydalıdır. Tablo ve grafiklerle hastanenin hangi biriminde hangi patojenlerin sıklıkla izole edildiği ve bu organizmaların antimikrobiyal duyarlılık profilleri gösterilmelidir.

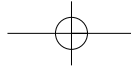
### Salgın Araştırılmasında Mikrobiyoloji Laboratuvarının Rolü

Mikrobiyoloji laboratuvarı aynı suştan kaynaklanan izolatları, benzer fenotipik karakterleri yoluyla belirleyerek erken uyarı görevini yapar. İnfeksiyon kontrol ekibi ile iletişim kurarak gözlemlerini paylaşır. Hastane infeksiyonu salgını veya benzer özelliklerde bir grup mikroorganizma ile karşılaşınca, infeksiyon kontrol ekibi en kısa zamanda salgının özelliklerini ve boyutlarını belirlemeli, muhtemel etkenleri tanımlamalı ve etkin infeksiyon kontrol ölçümlerini düzenleyip uygulamaya koymalıdır (Tablo 3).

İnfeksiyon kontrol ekibi çabuk ve etkin bir şekilde iletişim kurarak, tüm etkilenen kişileri belirlemeli ve kültür için örnekler uygun bir şekilde alınmalıdır. İnfeksiyon kontrol ekibi tarafından önceden bir uygulama planı hazırlanması salgın araştırmalarını kolaylaştırır.

Uygulamada birinci adım, hastanede oluşan salgınlarda en çok görülen mikroorganizma tipini belirlemektir (örneğin: cerrahi yoğun bakımdaki yara infeksiyonlarında, Acinetobacter baumannii gibi). Laboratuvar ve infeksiyon kontrol komitesi bir salgında, personel, zaman, para, materyal ve özgül testler yönünden olanakların ne olduğunu belirlemelidir. İnfeksiyon kontrol ekibinin uygulama programı yanında ek harcamaların nasıl ödeneceği de bu planda bulunmalıdır. Ek maliyet ne etkilenen hastalara ödettirilmeli ne de laboratuvarın harcama bütçesine eklenmelidir. Laboratuvar, infeksiyon kontrol komitesi başkanı ile ön görüşme yapmadan herhangi bir epidemiyolojik araştırma yapmamalıdır. Daha ileri analizler için potansiyel olarak ilişkili tüm mikroorganizmaları saklamak, laboratuvarın önemli bir sorumluluğudur. Laboratuvar gereken testleri yapamıyorsa, izolatları bir referans laboratuvara göndermelidir.





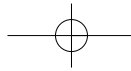
### Hastane İnfeksiyonlarında Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarının Rolü ◆

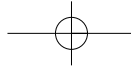
**Tablo 3.** Hastane infeksiyonu salgınlarının epidemiyolojik olarak araştırılmasında laboratuvarın rolü

Araştırma basamakları	Laboratuvarın katkısı
<p><b>1. Problemin tanımlanması</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Vaka tanımı</li> <li>İlave vakaların araştırılması</li> <li>Oranların hesaplanması</li> </ul>	<p><b>Laboratuvar surveyansı</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>İletişim (erken uyarı)</li> <li>Mikrobiyolojik doğrulama <ul style="list-style-type: none"> <li>İdentifikasyon</li> <li>Duyarlılık testleri</li> </ul> </li> <li>Bilginin arşivlenmesi</li> <li>İzolatların saklanması</li> </ul>
<p><b>2. Salgının özelliklerinin belirlenmesi</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Kim</li> <li>Ne</li> <li>Nerede</li> <li>Ne zaman</li> </ul>	<p><b>Salgın izolatlarının özelliklerinin belirlenmesi</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>İzolatların tiplendirilmesi</li> <li>Fenotipik yöntemler</li> <li>Genotipik yöntemler</li> <li>Suşların dağılımı ve sayısının belirlenmesi</li> </ul>
<p><b>3. Muhtemel sebeplere dikkat çekilmesi</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Bulaş yolu</li> <li>Potansiyel kaynağın tanımı</li> <li>Potansiyel vektörlerin tanımı</li> </ul>	<p><b>Destekleyici çalışmaların yapılandırılması</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Personel, hastalar ve çevreden kültürler</li> <li>Bu kültürlerden fenotipik özelliklerine göre izolatların seçimi</li> <li>Fenotipik olarak aynı olan seçilmiş izolatların salgın suşu ile aynı olup olmadığını belirlemek için tiplendirilmesi</li> </ul>
<p><b>4. Salgının kontrol altına alınması</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Kontrol ölçümlerini belirleme, uygulama</li> <li>Kontrol ölçümlerinin yeterliliğinin belirlenmesi</li> <li>Yeni vakalar için surveyansa devam edilmesi</li> </ul>	<p><b>Kontrol çalışmalarına destek için laboratuvar yöntemlerinin düzenlenmesi</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Laboratuvar surveyansına devam edilmesi</li> <li>İzolatların saklanması</li> <li>İletişime devam edilmesi</li> </ul>

#### Destekleyici Kültürlerin Yapılması

Epidemiyolojik araştırma sırasında mikrobiyoloji laboratuvarı hastalardan, hastane personelinden veya hastane çevresinden alınan numunelerden ayrıca kültür yapılmalıdır. Yüzlerce örneği işleme almadan önce, özgül araştırmalar için hangi testlerin gerekli olduğunu belirlemek amacıyla mikrobiyolog infeksiyon kontrol ekibi ile iletişim kurmalı epidemiyolojik bilgiyi, deneyimini ve literatürü tekrar gözden geçirmelidir. Seçici, ayırt edici ve zenginleştirici besiyerleri, özgül hastane infeksiyonu etkenlerini saflaştırmak için gerekli, iş yükünü azaltan ve az sayıda olan bakterileri saptamada faydalı olan yöntemlerdir.





◆ Bengül Durmaz

Hastane personelinden, tıbbi gereçlerden ve hastane çevresinden kültür yapmanın gerekli olup olmadığını, etiyolojik ajanın primer kaynağı ve bulaş yolu belirler. Kaynak olduğunu gösteren epidemiyolojik bilgi olmadığı durumda; hastalar veya hastane personelinden, antiseptikler, dezenfektanlar, infüzyon mayileri, ticari olarak hazırlanmış hasta tedavi gereçleri, hava, su ve çevresel yüzeylerden rutin olarak kültür için örnek almak çok pahalıdır ve önemli bir klinik ve epidemiyolojik bilgi sağlamaz.

Hastane personelinin ellerinden kültür yapılması, hastane infeksiyonu etkeninin hastadan hastaya ellerle geçtiğini doğrulamaya yardımcı olur. Bu kültürler sadece bir kişinin epidemik suşu bulaştırmış olduğuna dair epidemiyolojik kanıt olduğunda yapılmalıdır.

İnfeksiyon kontrol komitesi, çevresel örneklerden kültür yapmanın iş yükünü artıran ve standardize edilmemiş olduğunu ve yorumlaması güç sonuçlar verdiğini bilmelidir. Epidemiyolojik olmaması süreci hastane personeli ve çevresinden kültür için örnek alınmamalıdır.

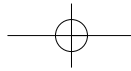
#### **Epidemiyolojik Tiplendirme Yapılması**

Patojenlerin biyolojik ve genetik ilişkisi, hastane infeksiyonlarının araştırılmasında yardımcı olur. Epidemiyolojik tiplendirme, aynı suşla klonal olarak ilişkili izolatlar ve aynı mikrobiyal türlerin ilişkisiz izolatları arasındaki farklılıklar için kullanılır. Birçok durumda, türlerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testleri izolatların epidemiyolojik olarak ilişkili olup olmadığını saptayabilir.

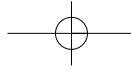
Epidemiyolojik tiplendirme yöntemleri hem fenotipik hem de genotipik olabilir. Antibiyotiklere duyarlılık profili, biyokimyasal profili, serotipi, bakteriofaja duyarlılık profili, immunoblot analizi gibi fenotipik yöntemler, bazı hastane infeksiyonlarının epidemiyolojisini ve bu infeksiyonların nasıl kazanıldığı mekanizmasını anlamaya olanak sağlar. Ancak fenotipik metotlar iş yükü fazla, uzun zaman alan, çoğunlukla değişken sonuçlar veren yöntemlerdir (Tablo 4).

Günümüzde epidemiyolojik tiplendirme için genelde genotipik yöntemler tercih edilmektedir. Bu yöntemler fenotipik metotlardan daha ayırt edicidirler. Ancak bazı durumlarda sonuçları kompleks ve yorumlanması güç olabilir.

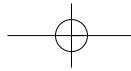
Genotiplendirme yöntemleri; hastaları kolonize veya infekte eden izolatlar arasındaki ilişki, infeksiyon yapan suşları kontaminantlardan ayırma, yatan hastalarda hastane infeksiyonu bulaşını gösterme, bir infeksiyon için tedavi alan hastalarda relaps ya da reinfeksiyonu ayırt etme, hastane içinde veya hastaneler arasında antimikrobiyal ilaç direncinin yayılımını izleme çalışmalarında kullanılmaktadır. İzolatların bir ya da daha fazla testle aynı veya farklı sonuçları verip vermediğini tanımlamak için çeşitli genotiplendirme yöntemleri kullanılmaktadır (Tablo 4).

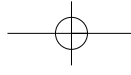





**Hastane İnfeksiyonlarında Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarının Rolü**
**Tablo 4.** Hastane infeksiyonu etkenlerinin epidemiyolojik analizi için fenotiplendirme ve genotiplendirme sistemleri

Tiplendirme Sistemi	Prensip	Kullanım alanı	Tiplendirme	Ayrım gücü	Verimlilik	Stabilite
Antibiyoqram	Antibiyotiklere duyarlılık profili	Geniş	Çok iyi	Değişken	İyi	Değişken
Biotipleme	Fenotipik özellikler profili	Dar	Çok iyi	Değişken	İyi	İyi
Serotipleme	Yüzeyel antijen farklılığı	Dar	İyi	Orta	İyi	İyi
Faj tiplleme	Özgül fajlarla lizise duyarlılık profili	Dar	Orta	İyi	Orta	Orta
İmmunblot	Proteinlerin MW.' Na göre ayrıştırılması	Dar	Çok iyi	İyi	İyi	Orta
Plasmid RFLP analizi	Plasmid DNA'sının RE enzimlerle kesilme profili	Orta	Değişken	Değişken	İyi	Orta
Ribotipleme	Genomik DNA segmentlerinin rRNA probu ile SB profili	Geniş	Çok iyi	Orta	Çok iyi	Çok iyi
Southern-blot (SB) / RFLP analizi	Genomik DNA segmentlerinin DNA probu ile SB profili	Dar	Çok iyi	Değişken	Çok iyi	Çok iyi
PFGE analizi	Genomik DNA'nın RE enzimlerle kesilme profili	Geniş	Çok iyi	Çok iyi	İyi	İyi
PZR temelinde RFLP	PZR ile çoğaltılan gen bölgesinin, RE enzimlerle kesilme profili	Dar	Çok iyi	Değişken	Çok iyi	Çok iyi
AP-PZR/ polimorfik DNA analizi	Arbitrary baz dizilerine homolog bölgeler arasında kalan genomik DNA segmentlerinin profili	Geniş	Çok iyi	İyi	Orta	İyi
rep-PZR	Tekrarlayan DNA bölgeleri arasında kalan genomik DNA segmentlerinin profili	Değişken	Değişken	İyi	İyi	Çok iyi
AFLP analizi	Adaptorle etiketli genomik DNA segmentlerinin PZR ile amplifikasyonu	Geniş	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi
Nükleotit baz dizi analizi	Değişken gen bölgeleri baz dizisi	Universal	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	İyi





◆ **Bengül Durmaz**

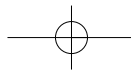
**Tablo 5.** Moleküler epidemiyoloji uygulamaları

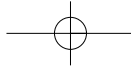
Klinik örnekler	Yöntem	Yorum
Tüberküloz salgını	Endonükleazla sindirilmiş M.tb izolatlarından DNA'nın RFLP analizi	Özellikle ilaca dirençli TB salgınlarının araştırılmasında faydalıdır.
MRSA salgını	S.aureus DNA'sının agaroz jel elektroforezi ile RFLP analizi	Sadece faj tiplendirme yeterli olmadığında kullanılmalıdır.
Enterococcus faecium salgını	MRSA 'a uygulanan yöntemin aynısı	Vankomisin dirençli suşlar olduğunda faydalıdır.
P.aeruginosa ve Acinetobacter türleri de dahil gram negatif basil salgınları	Genomik DNA'nın RFLP analizi ve/veya ribotipleme	Özellikle fenotipik metotlarla suşlar arasında ayrılık saptanmışsa kullanılmalıdır.
Meningokok salgını	Farklı primerlerle PCR ve A, B, veya C tipi meningokokları hızla ayırt edebilmek için özgül nükleik asit problemlerinin kullanımı	Temaslıların hemen aşılmasını sağlar.
Clostridium difficile salgını	RFLP + toksin salgılayan genleri tanımlamak için özgül nükleik asit problemleri	
Rotavirus salgını	Dışkıda saptanan suşlar RFLP teknikleri ile karşılaştırılabilir	Özellikle yenidoğanlarda salgınları araştırmak için kullanılır.
RSV Hepatit C	PCR nükleik asit problemleri ile genotipleme, RFLP ve tiplendirme için baz dizi analizi	Bulaş vakalarını araştırmak için
Hepatit B salgını	Genotipleme, mutantları saptamada baz dizi analizi gerekli	Sağlık personeli ←→ hasta arasında bulaşı araştırmada faydalıdır.
HIV	PCR nükleik asit problemleri ile genotipleme, RFLP ve tiplendirme için baz dizi analizi	Genotip farklılıklarında coğrafik değişimin araştırılmasında kullanılır.

### En sık kullanılan genotiplendirme yöntemleri

Plazmid profili, plazmid ve genom DNA'sının restriksiyon endonükleaz analizi, özgül DNA problemleri kullanarak Southern hibridizasyon analizi, PZR temeline dayalı yöntemler ya da pulsed field gel electrophoresis (PFGE) kullanarak kromozomal DNA profilini ortaya koymaktır.

Sporadik veya epidemiyolojik olarak ilişkisiz izolatların farklı DNA profiline sahip olduğu görülürken, epidemiyolojik olarak ilişkili izolatlar aynı DNA profilini paylaşırlar. Farklı hastalardan saflaştırılan farklı izolatlar aynı DNA profilini gösteriyorsa, muhtemelen aynı klondan kaynaklanmıştır ve hastadan hastaya ortak bir kaynak veya mekanizma ile bulaşmıştır. Benzer şekilde, aynı suş veya subtip bir hastadan tekrar tekrar saflaştırılabilir. Bu mikroorganizma hastayı infekte veya kolonize eden organizm olabilir, kontaminant değildir. Hastane infeksiyonu çalışmalarında DNA'ya





### Hastane İnfeksiyonlarında Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarının Rolü ◆

dayalı tiplendirme yöntemlerinden bazıları, belirli mikroorganizmalar için daha faydalı ve kolaylıkla uygulanabilen yöntemlerdir (Tablo 5).

PFGE ve PZR temeline dayalı tiplendirme yöntemleri, hastane infeksiyonu etkenlerinin çoğunluğu için kullanılan iyi yöntemlerdir. Ancak en iyi ve denenmiş tiplendirme yöntemi olsa bile, epidemiyolojik bilgi ile desteklenmiyorsa birbiri ile zıt ve karışık sonuçlar verir.

Tüm laboratuvar testlerinde olduğu gibi genotiplendirme yöntemlerinin de bazı kısıtlayıcı yönleri vardır (Tablo 4,5). Bilgisayar yardımlı sistemler, kompleks DNA bantlarının yorumlanmasına yardımcı olabilir. Fakat bu sistemler de kullanıcılara henüz tam olarak cevap verememektedir.

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarı etkili bir infeksiyon kontrol programında esas rolü oynar. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarı ve infeksiyon kontrol ekibi hastane infeksiyonlarının kontrolü ve önlenmesi amacıyla kendilerine düşen görevleri bir ekip anlayışıyla, işbirliği içinde yaparlarsa ve hedeflerini, ihtiyaçlarını, problemlerini paylaşırlarsa hem laboratuvar hem de infeksiyon kontrol ekibi başarılı olacaktır. Böylece hastane infeksiyonu riski ve dirençli organizmalarla karşılaşma oranı da azalacaktır.

### Kaynaklar

1. Arbeit RD. Laboratory procedures for epidemiologic analysis of microorganisms. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (editors). Manual of Clinical Microbiology kitabında, 7th ed. Washington: American Society for Microbiology; 1999: 116-37.
2. Pfaller MA, Herwaldt LA. The clinical microbiology laboratory and infection control: emerging pathogens, antimicrobial resistance, and new technology. Clin Infect Dis 1997; 25: 858-70.
3. Pfaller MA. Molecular approaches to diagnosing and managing infectious diseases: practicality and costs. Emerg Infect Dis 2001; 7: 312-318.
4. Shanson DC. Applications of molecular biology to clinical microbiology and infectious diseases. Microbiology in Clinical Practice kitabında, 3rd ed. Londra: Batterworth-Heinemann. 1999: 37-51.
5. Struelens MJ. The epidemiology of antimicrobial resistance in hospital acquired infections: problems and possible solutions. Br. Med J. 1998; 317:652-54.
6. Struelens MJ. Hospital infection control. Cohen J, Opal SM(editors). Infectious Diseases kitabında, 1st ed..London: Mosby Company.1999:10.1-14.
7. Tang YV, Persing DH. Molecular detection and identification of microorganisms. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC(editors). Manual of Clinical Microbiology kitabında, 7th ed. Washington: American Society for Microbiology, 1999: 215-44.

